

Sylvia Hexamer

**Expression von Adhäsionsmolekülen in der Magenschleimhaut
Helicobacter pylori positiver Kinder**

Aus der Kinderklinik und Kinderpoliklinik im Dr. von Haunerschen
Kinderspital der
Ludwig-Maximilians-Universität München
Ehem. Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h. c. D. Reinhardt
Komm. Direktor: Prof. Dr. D. Von Schweinitz

Dem Comprehensive Pneumology Center
Arbeitsgemeinschaft Entwicklungsimmunbiologie der Lunge

Helmholtz Zentrum München
Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt

**Expression von Adhäsionsmolekülen in der Magenschleimhaut
Helicobacter pylori positiver Kinder**



CPC



Comprehensive
Pneumology Center

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München
vorgelegt von

Sylvia Hexamer
aus
München

2011

**Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München**

Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. med. S. Krauss-Etschmann

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Rainer Haas
Priv. Doz. Dr. Michael Kasperek

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter:

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h. c. M. Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 03.03.2011

Meinem Vater in Liebe und Dankbarkeit

und

Hendrik, meiner Gegenwart und Zukunft

ABBILDUNGEN.....	4
TABELLEN.....	5
1 EINLEITUNG.....	7
1.1 GRUNDLAGEN ZUR INFEKTION MIT <i>HELICOBACTER PYLORI</i>	7
1.2 ENTZÜNDUNGSMECHANISMUS DER INFEKTION MIT <i>H. PYLORI</i>	9
1.3 ADHÄSIONSMOLEKÜLE UND IHR FUNKTIONSPRINZIP BEI ENTZÜNDUNGSREAKTIONEN.....	10
1.4 KLASSIFIKATION DER ADHÄSIONSMOLEKÜLE	12
1.5 REGULATION DER ADHÄSIONSMOLEKÜLE DURCH ENTZÜNDUNGSMEDIATOREN	17
2 ZIELSETZUNG DER ARBEIT	19
3 MATERIAL UND METHODEN	20
3.1 KRITERIEN DER PATIENTENAUSWAHL UND EINTEILUNG IN PATIENTENGRUPPEN	20
3.2 VERFAHREN ZUM NACHWEIS VON <i>H. PYLORI</i>	21
3.2.1 ¹³ C-Harnstofftest	21
3.2.2 Endoskopische Untersuchung	21
3.2.3 Urease- Schnelltest.....	22
3.2.4 Anzüchtung einer Bakterienkultur.....	22
3.2.5 Histologie	23
3.3 MATERIALGEWINNUNG.....	23
3.4 ANFERTIGUNG VON KRYOSTATSCHNITTEN UND IMMUNHISTOCHEMISCHE FÄRBUNG.....	24
3.5 AUSWERTUNG UND ARCHIVIERUNG DER IMMUNHISTOCHEMISCHEN SCHNITTE.....	24
3.6 STATISTISCHE AUSWERTUNG	25
3.7 MATERIAL	26
3.7.1 Glas- und Plastikmaterialien.....	26
3.7.2 Geräte.....	27
3.7.3 Chemikalien.....	27
3.7.4 Antikörper	28
4 ERGEBNISSE.....	29

4.1	PATIENTENGRUPPEN	29
4.1.1	Gruppe eins: Patienten mit verifizierter <i>H. pylori</i> -Infektion.....	29
4.1.1.1	<i>H. pylori</i> -Status der Patienten.....	30
4.1.1.2	Familien- und Medikamentenanamnese und frühere <i>H. pylori</i> -Eradikationstherapie.....	30
4.1.2	Gruppe 2: <i>H. pylori</i> -negative Kinder mit sicherer oder möglicher Magenerkrankung	31
4.1.2.1	Diagnosen und Symptomatik der Kinder aus Gruppe 2.....	31
4.1.3	Gruppe 3: <i>H. pylori</i> -negative Kinder mit ausgeschlossener oder unwahrscheinlicher Magenerkrankung.....	33
4.1.3.1	Diagnosen und Symptomatik der Kinder aus Gruppe 3.....	34
4.2	ENDOSKOPISCH ERHOBENE BEFUNDE	35
4.2.1	Veränderungen im Ösophagus	35
4.2.2	Veränderungen im Antrum	36
4.2.3	Veränderungen im Duodenum.....	36
4.3	AUFFÄLLIGKEITEN NACH DER SYDNEY-KLASSIFIKATION IM ANTRUM	36
4.3.1	Entzündungsaktivität	36
4.3.2	Entzündungschronizität.....	37
4.3.3	<i>H. pylori</i> -Dichte	38
4.3.4	Atrophie der Magenmukosa	39
4.3.5	Intestinale Metaplasie	39
4.4	QUALITATIVE BEURTEILUNG DER IMMUNHISTOCHEMISCHEN FÄRBUNG IM ANTRUM	40
4.4.1	Vorhandensein von Lymphfollikeln im Antrum	40
4.5	QUANTITATIVE BEURTEILUNG DER IMMUNHISTOCHEMISCHEN FÄRBUNG IM ANTRUM	41
4.5.1	Adhäsionsmoleküle in der Lamina propria	42
4.5.1.1	CD106-positive Zellen	42
4.5.1.2	CD11b-positive Zellen	44
4.5.1.3	CD54-positive Zellen	45
4.5.1.4	CD162-positive Zellen	47
4.5.1.5	CD18-positive Zellen	48
4.5.1.6	CD11a-positive Zellen.....	49
4.5.1.7	CD62L-positive Zellen.....	51
4.6	KORRELATIONEN DER HISTOLOGISCHEN UND IMMUNHISTOCHEMISCHEN ERGEBNISSE	53

4.6.1	<i>Zusammenhänge der immunhistochemischen Ergebnisse untereinander</i>	53
4.6.1.1	Korrelationen innerhalb der Gruppe 1	53
4.6.1.2	Korrelationen innerhalb der Gruppe 2	55
4.6.1.3	Korrelationen innerhalb der Gruppe 3	56
5	DISKUSSION	57
5.1	PATIENTENKOLLEKTIV	57
5.1.1	<i>Bedeutung der Patienteneinteilung in drei Gruppen</i>	57
5.1.2	<i>Bedeutung der Kollektivgrösse</i>	59
5.1.3	<i>Bedeutung des Lebensalters</i>	60
5.1.4	<i>Einfluss der Nationalität</i>	61
5.1.5	<i>Eradikationstherapien in der Vergangenheit</i>	61
5.2	ENDOSKOPISCH ERHOBENE BEFUNDE	62
5.3	HISTOLOGISCHE BEFUNDE NACH DER SYDNEY-KLASSIFIKATION	64
5.3.1	<i>Entzündungsaktivität</i>	64
5.3.2	<i>Entzündungschronizität</i>	66
5.3.3	<i>H. pylori -Dichte</i>	67
5.3.4	<i>Atrophie der Magenmukosa</i>	68
5.3.5	<i>Intestinale Metaplasie</i>	69
5.4	QUALITATIVE BEURTEILUNG DER IMMUNHISTOCHEMISCHEN FÄRBUNG IM ANTRUM	69
5.4.1	<i>Vorhandensein von Lymphfollikeln im Antrum</i>	69
5.5	QUANTITATIVE BEURTEILUNG DER IMMUNHISTOCHEMISCHEN FÄRBUNG IM ANTRUM	71
5.5.1	<i>CD106 positive Zellen</i>	71
5.5.2	<i>Positive Zellen der β_2-Integrine</i>	72
5.5.3	<i>CD54 positive Zellen</i>	73
5.5.4	<i>CD162 positive Zellen</i>	75
5.5.5	<i>CD62L positive Zellen</i>	76
6	ZUSAMMENFASSUNG	78
	LITERATURVERZEICHNIS	82

Abbildungen

Abbildung 1: Mehrstufiges Modell der Leukozyten- Endothelzell Zelladhäsion.....	12
Abbildung 2: Sydney-Klassifikation nach histologischen Untersuchungskriterien.....	23
Abbildung 3: Einteilung der Patientengruppen	29
Abbildung 4: CD106-Expression für die einzelnen Gruppen mit Median, IQR, Minimum, Maximum und Ausreißern	43
Abbildung 5: CD11b-Expression in der Lamina propria (Median, IQR, Minimum, Maximum und Ausreißer) pro mm ²	45
Abbildung 6: Streudiagramm der CD54-Expression der 3 Gruppen in der Lamina propria, wobei weiße Kästchen einzelne Patienten darstellen und schwarze Balken mehrere Patienten mit ähnlicher Molekülzahl pro mm ²	46
Abbildung 7: Streudiagramm der CD162-Expression pro mm ² der 3 Gruppen	48
Abbildung 8: CD18-Expression pro mm ² (Median, IQR, Minimum, Maximum und Ausreißer)	49
Abbildung 9: Streudiagramm der CD11a-Expression der 3 Gruppen	51
Abbildung 10: Streudiagramm der CD62L-Expression der 3 Gruppen.....	53

Tabellen

Tabelle 1: Glas- und Plastikmaterialien	26
Tabelle 2: Geräte	27
Tabelle 3: Chemikalien	27
Tabelle 4: Antikörper	28
Tabelle 5: Auflistung der Patienten aus Gruppe 2	32
Tabelle 6: Patienten der Gruppe 3 ohne Hinweis auf Magenerkrankung	35
Tabelle 7: Entzündungsaktivität im Antrum (Grad 0-3)	37
Tabelle 8: Chronizität der Entzündung im Antrum.....	38
Tabelle 9: Nachgewiesene <i>H. pylori</i> -Dichte im Antrum.....	39
Tabelle 10: Glanduläre Atrophie im Antrum	40
Tabelle 11: Auflistung der Kinder der Gruppe 2 mit nachgewiesenen Lymphfollikeln im Antrum	41
Tabelle 12: Vorkommen von Lymphfollikeln in Antrumbiopsien in den einzelnen Gruppen (Prozentangaben beziehen sich auf die jeweilige Gruppe)	41
Tabelle 13: Nachgewiesene CD106-positive Zellen pro mm ² und deren Verteilung mit Median, Minimum und Maximum innerhalb der verschiedenen Patientengruppen.....	43
Tabelle 14: CD11b-positive Zellen pro mm ² und deren Verteilung inklusive Median, Minimum und Maximum in den drei untersuchten Gruppen.....	44
Tabelle 15: CD54-Expression der Lamina propria mit Median, Minimum und Maximum der einzelnen Gruppen pro mm ²	46
Tabelle 16: CD162-positive Zellen pro mm ² mit Median, Minimum und Maximum in den einzelnen Gruppen.....	47
Tabelle 17: CD18-Expression pro mm ² mit Median, Minimum und Maximum im	

Patientenkollektiv	49
Tabelle 18: CD11a positive Zellen pro mm ² mit Median, Minimum und Maximum.....	50
Tabelle 19: Verteilung der CD62L-Expression mit Median, Minimum und Maximum	52
Tabelle 20. 1-7: Korrelationen der immunhistochemischen Ergebnisse untereinander für die Gruppe 1 mit Korrelationskoeffizient r und Signifikanzniveau p.....	55
Tabelle 21.1-2: Korrelationen der immunhistochemischen Ergebnisse untereinander für die Gruppe 2 mit Korrelationskoeffizient r und Signifikanzniveau p.....	55
Tabelle 22.1-3: Korrelationen der immunhistochemischen Ergebnisse untereinander für die Gruppe 3 mit Korrelationskoeffizient r und Signifikanzniveau p.....	56

1 Einleitung

1.1 Grundlagen zur Infektion mit *Helicobacter pylori*

Der Italiener Guilio Bizzozero war der Erste, der spiralförmige Organismen in Mägen von Hunden beobachtete und dokumentierte. Obwohl er nicht wusste, was er wirklich gesehen hatte, war ihm seine Entdeckung wichtig genug, um sie im Jahre 1893 zu veröffentlichen (83; 92). Gerade einmal drei Jahre später bestätigte der Deutsche Hugo Salomon, Bizzozeros Beobachtungen und Anfang des 20ten Jahrhunderts entdeckte ein weiterer Deutscher, W. Krienitz, spiralförmige Bakterien in Mägen von Magenkarzinompatienten (83). Keiner dieser drei Forscher hätte je gedacht, dass sich ihre Entdeckung als die meist verbreitete Ursache von gastroduodenalen Krankheiten herausstellen würde, von welcher mehr als 50 % der gesamten Menschheit betroffen ist (22). Denn es schien, trotz dieser Veröffentlichungen sehr zweifelhaft, dass ein Überleben von Bakterien in einem solch sauren Milieu, wie dem des Magens, überhaupt möglich ist (83; 92).

Erst 1982 gelang es Warren und Marshall aus Mägen von Patienten mit Gastritis und peptischen Ulzera diese spiralförmigen Bakterien anzuzüchten und somit die Voraussetzungen für die genauere Analyse des Keims zu schaffen. Sie erfüllten in einem Selbstversuch die Koch'schen Postulate und nannten das gefundene Bakterium *Campylobacter pyloridis*. Diese Bezeichnung wurde später in *Helicobacter pylori* umgewandelt (85; 92; 114). Kurz danach wurde auch erstmals über eine Assoziation zwischen *H. pylori* und antraler Gastritis bei Kindern berichtet (41; 50).

Das Bakterium *H. pylori* ist ein gram-negativer Organismus, der in zwei verschiedenen morphologischen Formen, der Stäbchen- und der kokkoiden Form auftritt (50). Die biologische Relevanz der beiden Morphologien ist nicht bekannt, jedoch wird vermutet, dass die Stäbchenform eine höhere Virulenz besitzt, während die kokkoide Form entweder einen

nichtvitalen Zustand, oder eine Schutzhülle für das inaktive Bakterium darstellt (51). Die Stäbchenform ist durch multiple, unipolare Flagellen äußerst beweglich.

Wie aber überlebt *H. pylori* in der unwirtlichen Umwelt zwischen Schleimschicht und Epithelzellen des Magens (50)? Die Antwort geben unter anderem die verschiedenen Enzyme, die vom Bakterium exprimiert werden. Katalase schützt *H. pylori* vor schädlichem Wasserstoffperoxid, welches von Phagozyten freigesetzt wird. Die Superoxiddismutase verwertet das Superoxid, welches von Neutrophilen und Makrophagen ausgeschüttet wird und Urease, als Schlüsselenzym des Organismus schützt den Keim vor der Magensäure, indem Harnstoff in Ammoniak und CO₂ gespalten wird und so eine pH-Verschiebung ins alkalische Milieu in der unmittelbaren Nähe des Keimes erreicht wird (50; 51; 83).

Menschen scheinen das hauptsächliche Reservoir für *H. pylori* darzustellen, obwohl andere mögliche Quellen wie Wasser, Hauskatzen und Hausfliegen genannt worden sind (51). Aus Wasser zum Beispiel konnte die DNA von *H. pylori* isoliert werden, wobei allerdings beachtet werden muss, dass eine Entdeckung von Keim-DNA nicht unbedingt den Nachweis lebender Zellen erbringt (83). Der Übertragungsweg scheint fäkal-oral oder oral-oral zu erfolgen (112). Diese Vermutung wird durch Studien unterstützt, in denen es gelang, DNA von *H. pylori* in Zahnbelag und Speichel von Kindern und Erwachsenen unter Verwendung der PCR (Polymerase-Ketten-Reaktion) zu bestimmen (50; 51; 85).

Eine Infektion mit *H. pylori* erfolgt meist in der Kindheit. Risikofaktoren stellen enge Wohnverhältnisse, schlechte hygienische Versorgung und ein schwacher soziokultureller Status dar (22; 50; 51; 85; 112). Die Prävalenz bei den unter Zehnjährigen in den Industrienationen beträgt ca. 1-5 %, während sie in Ländern der dritten Welt 30-70 % beträgt (51; 83).

Das Spektrum der Erkrankungen nach Infektion mit *H. pylori* reicht von Gastritis, über gastroduodenale Ulzera bis zu maligner Transformation, wie dem MALT-Lymphom oder

dem Adenokarzinom des Magens (22; 50; 51; 92). Etwa 90 % aller duodenaler und 70 % aller Magenulzera entstehen auf dem Boden einer Infektion mit *H. pylori* (17). Das Risiko einer Neoplasie steigt mit der Infektion um das 3- bis 12-fache an, vor allem bei einer Keimbesiedlung in früher Kindheit (50; 51). Diese Fakten führten dazu, dass *H. pylori* von der Weltgesundheitsorganisation (WHO) 1994 zum Karzinogen der Gruppe 1 erklärt wurde (22; 92).

1.2 Entzündungsmechanismus der Infektion mit *H. pylori*

Die Infektion mit *H. pylori* ist durch eine chronische Entzündungsreaktion mit ständiger Aktivierung und Invasion von segmentkernigen Granulozyten und Lymphozyten ins betroffene Gewebe charakterisiert (81). Obwohl sich in neueren Studien immer wieder Anhaltspunkte dafür finden lassen, dass *H. pylori* oder Untereinheiten davon ein invasives Potential besitzen (84; 138), wird bis zum heutigen Tag angenommen, dass es sich bei *H. pylori* in erster Linie um einen nicht invasiven Keim handelt. Dieser heftet sich an humane Magenmukosa (35; 49; 72) und passiert die Epithelschranke nicht, oder nur in verschwindend geringer Anzahl (89; 138). Auf welche Weise dennoch eine Entzündungsreaktion in den Epithelzellen oder darunterliegender Lamina propria hervorgerufen wird (20; 35; 74), im Verlauf derer es zu chronisch atrophischer Gastritis, Magenulcera, Magenkarzinomen und B-Zell- Lymphomen (80; 134) des Magens kommen kann (31; 118; 122), ist weiterhin nicht ganz geklärt.

Es wird angenommen, dass Proteinkomponenten und bisher unentdeckte Produkte des Erregers die Epithelschranke passieren können, und es daraufhin durch direkte oder indirekte Interaktionen mit Leukozyten zu deren Aktivierung und Kumulation in der Mukosa kommt (13; 69). Diese Aktivierung wird zum einen wohl durch direkte Interaktion der Bakterien mit Epithelzellen des Magens erreicht, wobei es zu einer vermehrten Freisetzung von chemotaktischen Stoffen und Zytokinen kommt (33; 35; 48; 54; 81; 94). Zum anderen wirken

Proteinkomponenten des Erregers direkt chemotaktisch auf neutrophile Granulozyten und Monozyten (17; 34; 110; 111; 120). Die im Laufe der Infektion mit *H. pylori* auftretenden Ulzerationen könnten durch Zellschädigungen im Zuge dieser stetigen Aktivierung und Rekrutierung von Entzündungszellen und deren Proteine auftreten (35; 61; 175), aber auch durch *H. pylori*-eigene Proteine entstehen, wie Urease oder Phospholipase (13; 160), welche Oberflächenschäden verursachen (13; 17; 31).

Wie es auch immer zur Entzündungsreaktion kommen mag, die dazu nötigen Vermittler der transendothelialen Migration von Leukozyten in die Lamina propria der Magenmukosa stellen die Adhäsionsmoleküle auf Leukozyten und Epithelzellen dar (69).

1.3 Adhäsionsmoleküle und ihr Funktionsprinzip bei Entzündungsreaktionen

In Entzündungsherden ermöglicht es die, durch Weitstellung der Gefäße induzierte, geringere Fließgeschwindigkeit den Blutleukozyten, aus der Mitte der Gefäße an den Rand zu gelangen, um mit dem Gefäßendothel in Verbindung zu treten (82).

Diese Wechselwirkungen werden durch Adhäsionsmoleküle ermöglicht, welche auf der Plasmamembran von Endothelzellen, Leukozyten und anderen Blutzellen exprimiert sind und durch Entzündungsmediatoren aktiviert werden. Diese Aktivierung erfolgt einerseits durch Vermehrung der Moleküle an der Zelloberfläche, andererseits durch Änderung ihrer Affinität und Avidität. Auf diese Weise entstehen stabile Zell-zu-Zell-Interaktionen, durch deren Hilfe die im Blut zirkulierenden Leukozyten in großer Zahl zum Entzündungsherd ins Gewebe transportiert werden können (131; 161; 179).

Die Wanderung durchs Endothel findet meist in den postkapillären Venolen statt. Es gibt jedoch Hinweise darauf, dass auch Kapillaren und Arteriolen an der Rekrutierung der Leukozyten teilnehmen und für Adhäsionsmolekül-abhängige Leukozyten-Endothel-Interaktionen verantwortlich sein könnten. (62; 152; 157).

Der initiale Schritt der Leukozytenmigration wird als „Rollen“ bezeichnet (siehe Abbildung 1, Seite 11). Es handelt sich dabei um eine schwache Bindung der Leukozyten ans Gefäßendothel aufgrund von Wechselwirkungen zwischen Selektinen auf dem Gefäßendothel und Leukozyten und deren entsprechenden Liganden (173; 81; 155; 159). Diese Bindung ist nicht stark genug, um den Scherkräften des Blutes zu widerstehen, so dass die Zellen, etwas langsamer als der Blutstrom (153) am Endothel entlang rollen, indem sie ständig neue Bindungen eingehen und alte wieder lösen. Stärkere Wechselwirkungen entstehen anschließend durch die Aktivierung von Integrinen auf Leukozyten (155; 179) und Induktion von Adhäsionsmolekülen der Immunglobulinfamilie auf dem Endothel. Durch Interaktionen der beiden Molekülgruppen kommt es zum sogenannten „Zellarrest“ der Leukozyten auf dem Gefäßendothel (12; 27; 65; 99; 131; 165), das heißt einer festen Adhäsion. Dadurch wird den Leukozyten ermöglicht, sich zwischen den Endothelzellen hindurchzwängen (131). Der Schritt der Extravasation ist erreicht. Während der Durchwanderung formt der Leukozyt in seiner Fortbewegungsrichtung immer neue Adhäsionskontakte, während er sie am hinteren Genpol wieder ablöst. Dies kann jedoch nur deshalb erfolgen, weil die Adhäsion zu keiner Zeit so stark wird, dass es zu einer Immobilisation der Zelle auf dem Endothel kommt (131). Nachdem die Zelle das Endothel passiert hat, tritt sie in Wechselwirkung mit Proteinen der extrazellulären Matrix wie Kollagen und Fibronectin. Der funktionelle Phänotyp der Blutleukozyten wechselt nun zu dem einer an Mobilität in den Geweben angepassten Zelle z.B. durch Verlust von Oberflächenmolekülen (143).

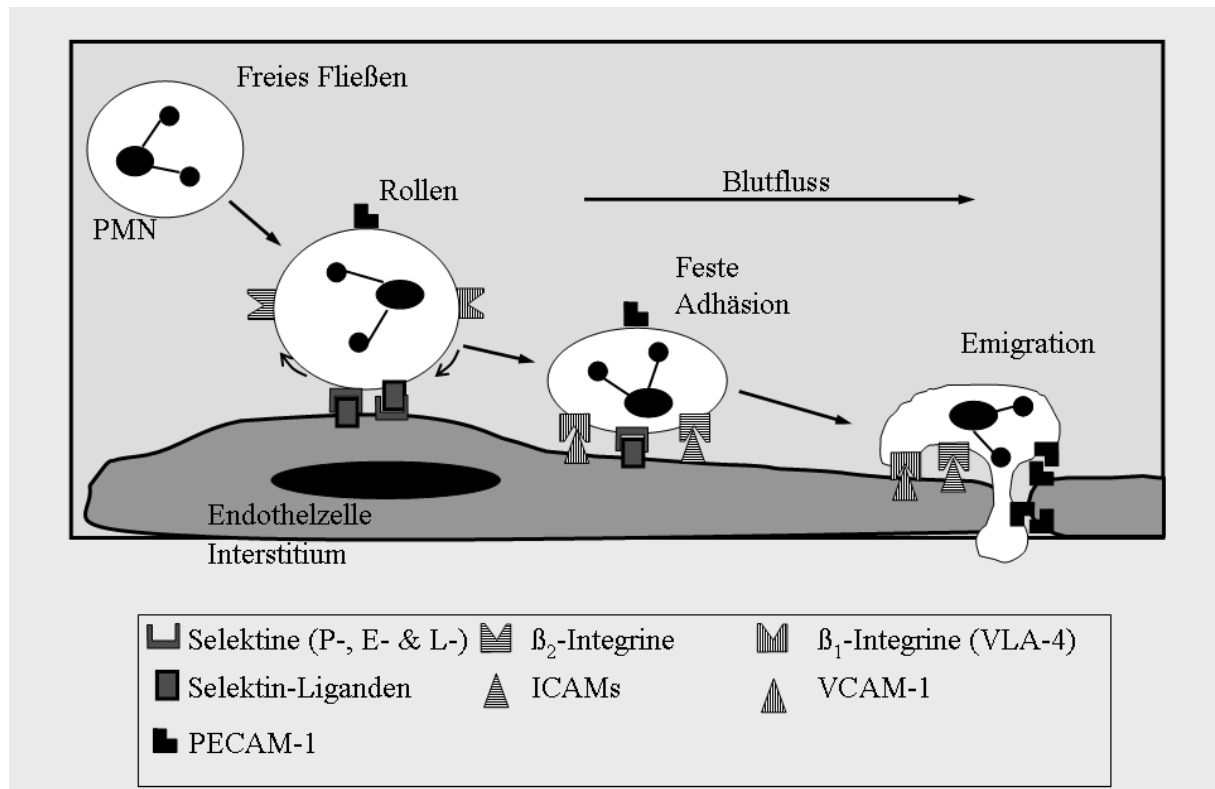


Abbildung 1: Mehrstufiges Modell der Leukozyten- Endothelzell Zelladhäsion

1.4 Klassifikation der Adhäsionsmoleküle

Adhäsionsmoleküle spielen eine Schlüsselrolle bei der Entstehung von Entzündungsreaktionen des Gastrointestinaltrakts und der daraus resultierenden Leukozytenakkumulation am Entzündungsort. Adhäsionsmoleküle gehören hauptsächlich drei verschiedenen Gruppen an, den Selektinen, den Integrinen und den Mitgliedern der Immunglobulinsuperfamilie.

Selektine sind eine Familie von drei verschiedenen, jedoch eng verwandten Proteinen, welche die „rollende“ Adhäsion von Leukozyten an Gefäßendothelien vermitteln. L-Selektin befindet sich auf Leukozyten, E-Selektin auf Endothelzellen und P-Selektin sowohl auf Endothelzellen, als auch auf Thrombozyten (17; 59; 86). Am Vorgang des „Rollens“ sind alle drei gleichermaßen beteiligt. Jedes Selektinmolekül besteht aus einer einzelnen Kette eines Transmembran-Glykoproteins mit ähnlicher modularer Struktur (53). Das N-terminale,

extrazelluläre Ende ist mit den Kohlenhydrat-bindenden Proteinen (C- Lektine) der Säuger verwandt (40; 82; 153; 161). Die Ligandenbindung der Selektine ist, wie die der C-Typ-Lektine, kalziumabhängig. Dieser Lektindomäne folgt zunächst eine Sequenz (EGF-Sequenz) von ca. 35-40 Aminosäuren die sechs Zysteine enthält (64; 155), und ihrerseits von mehreren Domänen in Tandemform abgelöst wird. Diese sind gekennzeichnet durch eine variierende Anzahl von homologen Sequenzen (159; 161), jede davon ca. 60 Aminosäuren lang. Die spezielle Funktion der so genannten Komplement-Bindungen ist unklar (172), aber mit steigender Anzahl der Domänen könnte die Effizienz des Rollens unterstützt werden (137). Schließlich folgen noch eine hydrophobe Transmembran- und eine kurze C-terminale, zytoplasmatische Region (1).

L-Selektin oder CD62L gilt als „homing-Rezeptor“ für Lymphozyten in den postkapillären Venolen der Lymphknoten (172). Zusätzlich wird es auch von anderen Leukozyten exprimiert und vermittelt deren Bindung an aktiviertes Endothel in Entzündungsreaktionen. Es wird angenommen, dass die Erkennung des Liganden durch L-Selektin rasch, jedoch mit niedriger Affinität erfolgt. Diese Eigenschaft gestattet das initiale „Rollen“ der Leukozyten auf dem Endothel (162; 168). Durch die Zellaktivierung der Granulozyten bei Kontakt mit Chemokinen, oder, laut neueren Studien auch durch L-Selektin selbst (101) wird CD62L schnell, das heißt innerhalb von 1-5 min (172) von der Oberfläche der Leukozyten im so genannten „Shedding“ abgestreift (168; 49; 88). Dies beeinflusst vermutlich die Rollgeschwindigkeit positiv, da das „Rollen“ bei immobilisierten L-Selektinen langsamer abläuft (174). Als Ligand dient L-Selektin hauptsächlich GlyCAM-1.

P- Selektin oder CD62P wurde zuerst in Granula von Thrombozyten gefunden. Seither wurde es auch in den sekretorischen Granula von Endothelzellen, den Weibel-Palade-Körperchen, nachgewiesen (162). Die zur Freisetzung der gespeicherten Granula führende proinflammatorische Stimulation von Endothelzellen oder Blutplättchen hat, als Teil des

sekretorischen Exozytosevorgangs, innerhalb von Minuten die Verschiebung von P-Selektin an die Zelloberfläche zur Folge (172; 179). So wird die Initiierung des „Rollens“ zum frühen Zeitpunkt gesichert (179). Auf der Zellmembran vermittelt P-Selektin die Bindung neutrophiler Granulozyten und Monozyten an Liganden. Den einzigen biologisch relevanten Liganden für P-Selektin stellt

P-Selektin-Glykoprotein-Ligand 1 (PSGL-1 oder CD162) dar (101; 172; 179), der auf Leukozyten und in geringerer Zahl auf Thrombozyten exprimiert wird (52; 172). Es handelt sich dabei um ein Homodimer mit einem Molekulargewicht von 210000, das aus zwei Ketten besteht, die durch eine Disulfidbrücke kovalent verbunden werden. Die für die Bindung essentiellen Kohlenhydratepitope sind Oligosaccharide in spezieller Verknüpfung mit Fucose und terminaler Sialinsäure, die Sialyl Lewis^x genannt werden (102; 149; 159; 183). Zusätzlich trägt PSGL-1 am N-terminalen Ende ein sulfatisiertes Tyrosin (139; 147; 172), welches zur hohen Affinität der Bindung an P-Selektin beiträgt.

E-Selektin oder CD62E findet sich ausschließlich auf zytokinaktivierten Endothelzellen bei akuten Entzündungsreaktionen. E-Selektin vermittelt die späte Phase des „Rollens“ der Leukozyten auf Endothelzellen, da es auf der Transkriptionsebene stimuliert wird (179). Die Adhäsion von Leukozyten auf E-Selektin aktiviert schließlich β -2-Integrine, womit die feste Adhäsion eingeleitet wird.

Integrine vermitteln die feste Adhäsion auf den Endothelzellen. Sie sind heterodimere Transmembranproteine der Zelloberfläche, die aus zwei nicht kovalent gebundenen Polypeptidketten, α und β , bestehen (161; 131; 181) und aus einer großen extrazellulären und einer kleinen, aber funktionellen zytoplasmatischen Domäne zusammengesetzt sind (155). Das extrazelluläre Ende jeder Kette bildet einen globulären Kopf, der an der Verbindung zwischen den beiden Ketten sowie an der Bindung des Liganden beteiligt ist. Der globuläre Kopf der α -Untereinheit weist eine Domäne auf, die Ca^{2+} abhängig (161) divalente Kationen

bindet, essentiell für die Rezeptorfunktion der Integrine (1). Es folgen Transmembransegmente und zytoplasmatische Enden, die gewöhnlich weniger als 50 Aminosäuren aufweisen (1)

Die Subfamilien der Integrine werden durch ihre β -Untereinheiten klassifiziert (155). Nur Moleküle der β_1 - und β_2 -Familie dienen als Modulatoren der Leukozyten- Endothelzellen- Adhäsion und werden hier näher erläutert. Die Spezifität der β_1 - und β_2 -Integrine liegt hauptsächlich an der mit ihnen verbundenen α -Kette (131)

Die **β_1 -haltigen Integrine** werden auch als VLA-Moleküle (very late activation) bezeichnet, da sie erst sehr spät nach einem Stimulationsreiz exprimiert werden. Der wichtigste Vertreter ist VLA-4, der auf Leukozyten und nicht-hämatologischen Zellen verbreitet ist und durch Interaktion mit seinem Liganden VCAM-1 an die extrazelluläre Matrix von Endothelzellen bindet.

Integrine der β_2 -Familie bestehen aus einer gemeinsamen β_2 -Einheit, CD18, die mit einer von bisher vier bekannten α -Untereinheiten: CD11a, CD11b, CD11c und CD11d verbunden ist (131; 155). Obwohl die Expression von β_2 -Integrinen auf Leukozyten beschränkt bleibt, variiert die Verteilung der einzelnen Unterklassen.

CD11a/CD18 oder auch LFA-1 genannt ist an der Oberfläche aller Leukozyten, einschließlich der Lymphozyten ausgeprägt. Es interagiert mit den interzellulären Adhäsionsmolekülen ICAM-1, -2 und -3 auf Endothelzellen im Schritt der festen Adhäsion (29; 59; 113; 131).

CD11b/CD18 oder Mac-1 wird auf Granulozyten, Monozyten und NK-Zellen ausgebildet (131). Dieses Integrin interagiert ausschließlich mit ICAM-1 an Endothelzellen.

Die Regulierung der Integrinaktivierung auf den Blutzellen wird durch Wechsel der Konformität und Affinität sowie Wechselwirkungen mit anderen Molekülen, wie Oberflächenproteinen erklärt (113). Dafür gibt es zwei Modelle. Das „inside-out“-Modell

beschreibt einen Aktivierungskomplex, ausgelöst durch ein proinflammatorisches Signal, welcher die Konformation der Zytoplasmadomänen verändert. Diese Veränderung wird an die extrazellulär liegenden Domänen weitergeleitet, (105; 155; 162) die Ligandenbindung kann erfolgen. Das „outside-in“-Modell beinhaltet eine Interaktion der Integrine mit Liganden, durch, welche eine Konformationsänderung erreicht, die dann ins Zytoplasma übermittelt wird (105; 155).

Moleküle der **Ig-Superfamilie** schließen eine große Zahl von Molekülen ein, die mindestens eine gemeinsame Immunglobulindomäne teilen, welche sich aus etwa 90-100 Aminosäuren zusammensetzt (132). Die Struktur besteht aus in einer sandwichartigen Anordnung zweier β -Faltblätter, die beide aus je drei bis fünf antiparallelen β -Strängen von je fünf bis zehn Aminosäuren bestehen. Diese werden normalerweise durch eine zentrale Disulfidbrücke stabilisiert (4; 178). So wird dem Polypeptid seine globuläre Tertiärstruktur verliehen. Einige Mitglieder dieser großen Molekülfamilie sind in die Leukozyten-Endothelzellen-Interaktionen bei Entzündungen involviert: ICAM-1 (CD54), ICAM-2 (CD102), VCAM-1 (CD106) und das Adressin MadCAM-1 (18; 59).

ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1) hat, im Gegensatz zu Immunglobulinen, die gepaarte Ig-Domänen aufweisen, fünf ungepaarte Ig-typische Domänen (10). Davon erkennt und bindet die erste den Integrinliganden CD11a/CD18 (37) und die dritte CD11b/CD18 (79; 113; 163; 170). ICAM-1 ist hauptsächlich auf Leukozyten, Fibroblasten, Epithel- und Endothelzellen zu finden, ist in nicht aktivierten Zellen jedoch nur gering exprimiert. (44; 78; 132). Durch Zytokinausschüttung aktiviertes Endothel führt zu vermehrter ICAM-1 Expression auf den Epithelzellen (44; 73; 88), die durch mRNA-Duplikation erreicht wird (154). Dies führt, durch Wechselwirkungen mit β -2-Integrinen, zu vermehrter Bindung von Leukozyten ans Epithel (5; 132). ICAM-1 könnte sogar das Schlüsselprotein dieser Leukozytenrekrutierung darstellen (93).

VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1) ist als zytokinaktiviertes Adhäsionsmolekül der Endothelzellen (28; 75; 128) definiert. Es besteht aus sieben Ig-ähnlichen Domänen, dessen Nummer zwei und drei homolog zu Nummer vier und sechs sind (76), weshalb eine Genduplikation zur Entstehung seiner Struktur angenommen wird. Seinen Hauptliganden VLA-4 bindet es an Domäne eins und vier (131), und trägt somit zur späten Leukozytenrekrutierung zum Entzündungsherd bei. Zusätzlich wurde ein gesplittetes VCAM-1 gefunden, bei welchem die vierte Domäne fehlt und dessen biologische Signifikanz weiterhin rätselhaft bleibt (129).

1.5 Regulation der Adhäsionsmoleküle durch Entzündungsmediatoren

Die Expression von Adhäsionsmolekülen wird von vielen physikalischen, chemischen und molekularen Faktoren beeinflusst, was letztendlich zu einer Auf- beziehungsweise Abregulation von Entzündungsreaktionen führt.

Die Koordination wird durch mediatorspezifische Bereitstellung von Adhäsions-Glykoproteinen an der Oberfläche von Leukozyten oder Endothelzellen gewährleistet (129).

Die wichtigsten Zytokine, die in eine Entzündungsreaktion involviert sind, stellen Tumornekrose-Faktor- α (TNF- α), Interleukin-1 (IL-1), IFN- γ und Chemokine dar (59; 109). Andere lösliche Mediatoren, wie Plättchen-aktivierender-Faktor (PAF), Prostaglandine etc. spielen eine zusätzliche Rolle im Entzündungsphänomen. Den hauptsächlichen Stimulus zur IL-1 und TNF- α Synthetisierung und Freisetzung stellen bakterielle Lipopolysaccharide dar (171). TNF- α und IL-1 induzieren die Aktivierung von Leukozyten und Endothelzellen, die selbst daraufhin Adhäsionsmoleküle, wie ICAM-1, VCAM-1 oder P-Selektin exprimieren (17; 38; 71; 82). Dabei reagieren Adhäsionsmoleküle verschiedenartig auf gleiche Stimuli. IFN- γ induziert zum Beispiel ICAM-1 auf dem Gefäßendothel (162), VCAM-1-Expression wird jedoch nicht beeinflusst (143). Dadurch wird es ersichtlich, dass die verschiedenen Aktivatoren das Spektrum der Moleküle an verschiedensten Stellen beeinflussen. Des

Weiteren konnten synergistische Effekte in der Regulierung von Adhäsionsmolekülen gefunden werden, wenn mehrere Aktivatoren gleichzeitig auf sie einwirkten (140).

PAF induziert eine Superperfusion der Gefäße und fördert auf diese Weise eine vermehrte Leukozytenadhäsion (95; 182). Außerdem reguliert PAF, das auf aktivierten Endothelzellen zu finden ist, die Expression von β -2-Integrinen, davon hauptsächlich Mac-1 (165). Die aktivierten Leukozyten veranlassen eine Translokation von Mac-1 an die Zelloberfläche und das „Shedding“ von L-Selektin (59). Durch diese und weitere Effekte spielen diese Zytokine eine herausragende Rolle im Entzündungsmechanismus.

Die meisten Zelllinien, wie Endothelzellen, Leukozyten und Thrombozyten, sind fähig auf diese proinflammatorische Stimulationen Chemokine auszuschütten, die ihrerseits die Aktivierung und Anlockung von Leukozyten zum Entzündungsherd fördern (8; 144). Die Ausschüttung unterschiedlicher Chemokine zieht die Aktivierung bestimmter Leukozyten nach sich (8; 144), daher wird angenommen, dass die selektive Freisetzung bestimmter Chemokine die Zusammensetzung des entzündlichen Zellinfiltrates bestimmt (59).

2 Zielsetzung der Arbeit

Die Resistenz der Bakterien gegenüber der üblichen *H. pylori*-Tripletherapie tritt heute immer häufiger auf. Gleichzeitig ist bei dieser Standardtherapie eine hohe Compliance von Seiten des Erkrankten oder dessen Erziehungsperson notwendig, da bei Noncompliance die Gefahr weiterer Resistenzen droht. Es ist deshalb wichtig, alternative therapeutische Strategien zur Eradikation des Bakteriums zu entwickeln. Hierfür ist es jedoch zwingend notwendig, die Pathophysiologie der *H. pylori*- Infektion vollständig zu verstehen, wobei insbesondere die Entstehung einer Entzündungsreaktion nach der Infektion mit dem Bakterium weiterhin unklar ist.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es deshalb, die Expression von Adhäsionsmolekülen bei *H. pylori*-Infektion in der Magenmukosa *in situ* zu untersuchen.

Im Einzelnen wurden folgende Fragen gestellt:

- Welche Adhäsionsmoleküle sind bei Kindern nachweisbar?
- Welche Adhäsionsmoleküle sind in der Magenmukosa *H. pylori*-infizierter Kinder im Vergleich zu *H. pylori*-negativen Kindern mit anderen Magenerkrankungen und zu magengesunden Kindern nachweisbar?
- Gibt es eine Altersabhängigkeit in der Expression der Adhäsionsmoleküle?
- Korrelieren Adhäsionsmoleküle untereinander, sowohl innerhalb, als auch zwischen den Molekülgruppen?

3 Material und Methoden

3.1 Kriterien der Patientenauswahl und Einteilung in Patientengruppen

Für unsere Arbeit wurden Magenschleimhautpiopsien von 70 Kindern verwendet, die wegen unterschiedlicher abdomineller Symptomatik endoskopisch untersucht wurden. Sie litten unter anderem an: gastroösophagealem Reflux, rezidivierendem Erbrechen, chronischen abdominellen Schmerzen, Gedeihstörungen, chronisch entzündlichen Darmerkrankungen oder Zöliakie.

Die untersuchten Kinder wurden nach den folgenden, zuvor festgelegten Kriterien, in drei Gruppen eingeteilt.

In Gruppe 1 wurden Kinder eingeschlossen, deren Infektion mit *H. pylori* durch mindestens drei positive Testergebnisse, der gebräuchlichen diagnostischen Methoden zur Verifikation des Keims (¹³C- Harnstofftest, Urease-Schnelltest, Histologie, Kultur, Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung) gesichert worden war. Ausschlusskriterien in dieser Gruppe waren angeborene oder erworbene Immundefekte und eine Medikation mit Antazida, Steroiden, Antibiotika oder NSAR bis zu vier Wochen vor der Endoskopie. **In Gruppe 2** wurden Kinder eingeschlossen, bei welchen eine Infektion mit *H. pylori* anhand durchgängiger negativer Ergebnisse in ¹³C- Harnstofftest, Urease- Schnelltest, Kultur und Histologie ausgeschlossen werden konnte. Aufgrund der Beschwerdesymptomatik der Kinder und den daraufhin erhobenen Befunden ist in dieser Patientengruppe eine Magenbeteiligung im Rahmen der verschiedenen Grunderkrankungen gesichert oder möglich. Des Weiteren war bei einem Teil der Kinder die Immunitätslage durch die Erkrankung an sich, oder iatrogen durch Medikamente supprimiert.

In Gruppe 3 wurden Kinder eingeschlossen, die ebenfalls *H. pylori*-negativ waren und bei deren Grunderkrankung eine Beteiligung des Magens als ausgeschlossen oder äußerst

unwahrscheinlich war. Zum Einschluss in unsere Studie musste bei Kindern dieser Gruppe die Medikamentenanamnese für Wirkstoffe, welche die Funktion der Magenmukosa oder des Immunsystems beeinträchtigen könnten, negativ beantwortet werden.

Bei allen Kindern, unabhängig deren Gruppenzugehörigkeit, wurden Alter, Geschlecht und Nationalität erhoben.

3.2 Verfahren zum Nachweis von *H. pylori*

3.2.1 ^{13}C -Harnstofftest

Der ^{13}C -Harnstofftest ist ein etabliertes, nicht-invasives Verfahren, um eine Infektion mit *H. pylori* aufzudecken. Der Test macht sich die Fähigkeit von *H. pylori* zu Nutze, das Enzym Urease freizusetzen, welches Harnstoff zu Kohlendioxid (CO_2) und Ammoniak (NH_3) abbaut (158, 90). Der Patient nimmt dabei radioaktiv markierten Harnstoff (^{13}C) zu sich. In unserem Falle verabreichten wir den Kindern 200 ml Apfelsaft, die mit 75 mg ^{13}C -Harnstoff angereichert waren. Befindet sich *H. pylori* und damit eine entsprechend hohe Urease-Enzymaktivität im Magenepithel, wird dieser Harnstoff abgebaut und taucht in der Ausatemluft als radioaktiv markiertes CO_2 auf.

Deshalb wurde, in unserem Falle, nach 15 und 30 Minuten eine Atemprobe gewonnen und massenspektrometrisch deren Gehalt an $^{13}\text{CO}_2$ bestimmt. Diese Ergebnisse wurden danach mit einem vor Testbeginn bestimmten Nullwert verglichen.

Betrag der $^{13}\text{CO}_2$ -Gehalt mehr als 5 % Abweichung von diesem Nullwert, wurde der Test als positiv im Bezug auf eine Infektion mit *H. pylori* bewertet.

Verschiedene Studien befassten sich mit der Sensitivität und Spezifität dieses diagnostischen Verfahrens und gaben diese mit 90- 95 % und 99% (58) an.

3.2.2 Endoskopische Untersuchung

Die endoskopische Untersuchung umfasste den Ösophagus, den gesamten Magen (Kardia,

Korpus, Antrum) und das Duodenum bis hin zum Pars descendens. Beurteilt und dokumentiert wurden, die makroskopische Beschaffenheit der Mukosa von Magen und Bulbus duodeni und deren pathologische Veränderungen, wie Erythema, Erosionen, Ulcera und „Gänsehaut“-Mukosa durch noduläre Lymphfollikelhyperplasie.

Die Untersuchung wurde in den meisten Fällen in einer Sedierung mit Dormicum durchgeführt. In einigen Fällen war eine Intubationsnarkose erforderlich.

3.2.3 Urease- Schnelltest

Dabei handelt es sich um ein invasives Testverfahren, bei welchem man sich wiederum die Aktivität des Enzyms Urease und die bei der Spaltung von Harnstoff entstehenden Produkte NH_3 und CO_2 zu Nutze macht. Die CO_2 -bedingte pH-Verschiebung in den alkalischen Bereich lässt sich mit Hilfe eines beigefügten Farbindikators leicht nachweisen.

Die bei der Endoskopie gewonnenen Gewebeproben wurden in 2 - 6 % harnstoffhaltige Gelatine gebettet (HUT ®). Bei einer Konzentration von mehr als 10'000 Keime in diesem Gewebstück kam es nach ca. 20 Minuten durch die Erhöhung des pH-Wertes zu einem Farbumschlag des Indikators.

Beim Ablesen des Testergebnisses bis zu wenigen Stunden nach der Durchführung, liegt dessen Spezifität bei 95 % bis 98 % und die Sensitivität bei 90 % bis 97 % (97; 123)

3.2.4 Anzüchtung einer Bakterienkultur

Hierbei handelt es sich um ein weiteres invasives Diagnostikverfahren mit einer Spezifität von 100 %. Der Keim reagiert jedoch äußerst empfindlich auf jegliche Art von Umweltreizen, deshalb kann eine ebenso hohe Testsensitivität nur durch einen äußerst schnellen Transport ins untersuchende Labor (innerhalb 4 h nach Biopsieentnahme) in einem Spezialnährmedium erreicht werden. Unsere untersuchten Antrumbiopsien wurden deshalb sofort nach der Entnahme, in Portagerm®-Transportmedium gebettet, zum Max-von-Pettenkofer-Institut zur kulturellen Anzüchtung gebracht.

3.2.5 Histologie

Die in Formalin fixierten Magenschleimhautbiopsien wurden von einer Pathologin histologisch beurteilt. Während ihrer Untersuchung waren ihr weder Namen, noch Diagnosen der Kinder bekannt. Sie stützte ihre histologische Begutachtung auf die modifizierte Sydney-Klassifikation für Erwachsene (39; 164).

Ätiologie	Verlauf	Topographie	Gastritis	Entzündung	Grad
<i>H. pylori</i>	akut	Antrum		Aktivität	nicht = 0
Autoaggression	chronisch	Korpus		Atrophie	geringgradig = 1
chem. Noxe	Sonderform	Pan-		Metaplasie	mittelgradig = 2
				Erregernachweis	hochgradig = 3

Abbildung 2: Sydney-Klassifikation nach histologischen Untersuchungskriterien

Dabei wurde besonderes Augenmerk gerichtet, auf:

1. Aktivität der Entzündung, anhand der Anzahl der neutrophilen Granulozyten
2. Chronizität der Entzündung, anhand der Anzahl der Lymphozyten
3. Atrophie der Drüsen
4. Metaplasie
5. Dichte der *H. pylori*-Besiedlung

Diese einzelnen Gesichtspunkte wurden anhand der Gradeinteilung mit einer Zahl von 0 - 3 bewertet.

3.3 Materialgewinnung

Während der endoskopischen Untersuchung wurde je eine Biopsie für die *H. pylori*-Diagnostik, die immunhistochemische Untersuchung, den Urease- Schnelltest, die kulturelle Anzüchtung, die feingewebliche Untersuchung und die molekularbiologische Untersuchung entnommen und entsprechend ihres Verwendungszwecks weiterverarbeitet (91). Siehe dazu auch Material und Methoden Kapitel 3.2.und 3.4.

3.4 Anfertigung von Kryostatschnitten und immunhistochemische Färbung

Die für die Immunhistochemie vorgesehenen Biopsien wurden, in 0,25ml Tissue-Tek eingebettet, bei -23°C auf einen Objekthalter fixiert. Dabei wurde darauf geachtet, dass die Biopsie genau parallel zur Messerschneide arretiert worden war, um exakte Gewebsschnitte in einer Dicke von 5µm anfertigen zu können. Diese Schnitte wurden daraufhin auf einen Objektträger aufgebracht und luftgetrocknet. Durchschnittlich konnten aus einer Biopsie 50 dieser Gewebsschnitte angefertigt werden.

Nach dem Trockenvorgang wurden diese in bekannter Methode mit Immunperoxidase-Färbetechnik gefärbt. Die damit sichtbar gewordenen farbigen Produkte auf der Zelloberfläche entsprachen den Adhäsionsmolekülen, deren Eigenschaften in dieser Arbeit untersucht worden sind (91).

3.5 Auswertung und Archivierung der immunhistochemischen Schnitte

Die Auswertung der Schnitte erfolgte in zwei Schritten.

Zuerst wurde eine qualitative Betrachtung des gesamten Schnittes durchgeführt. Dabei richtete sich besonderes Augenmerk auf das Vorkommen von Lymphfollikeln in den Schnitten. Es wurde untersucht, welche der Adhäsionsmoleküle innerhalb der Lymphfollikel angefärbt worden waren; die Ergebnisse dieser Untersuchung wurden schriftlich festgehalten.

Der zweite Schritt beinhaltete die quantitative Auswertung der Schnitte am Computer.

Dabei wurden zuerst, in 20facher Vergrößerung am Mikroskop, je drei Gesichtsfelder, pro zu untersuchendem Antigen, rein zufällig ausgewählt. Diese Mikroskopsichtfelder durften sich weder überlappen, noch durften sich dort, beim Anfertigen der Schnitte entstandenen Artefakte und keine Lymphfollikel zeigen. Diese ausgewählten Felder wurden digital auf den Computer übertragen und dort mit Hilfe der dhs-Bilddatenbank der dhs Solution GmbH ausgewertet.

Pro Patient wurde in diesem Programm eine Mappe angelegt, in der die Bilder aller ausgezählten Moleküle gespeichert wurden. Die drei Gesichtsfelder pro Molekül wurden dabei jeweils in doppelter Ausführung digitalisiert, pro Gesichtsfeld wurde somit jeweils ein Bild bearbeitet, das andere in der unbearbeiteten Form belassen.

Angefärbte Zellen der Lamina propria wurden zuerst farbig markiert. In einem zweiten Schritt wurde ein Raster mit 22 µm Kantenlänge über das Bild gelegt und die Eckpunkte dieses Rasters, welche die Lamina propria schnitten, markiert. Über diese Schnittpunkte wurde schließlich die Fläche der Lamina propria quantitativ bestimmt. Die in der Lamina propria angefärbten Zellen wurden auf die Flächen von einem Quadratmillimeter hochgerechnet.

3.6 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte nach intensiver Beratung durch das Institut für Biometrie und Statistik der LMU München, und dessen Mitarbeiter Dr. Dirschedl.

Unsere Berechnungen stützten sich generell auf Median-Werte anstelle des Mittelwerts, da bei der geringen Fallzahl von $n = 70$ nicht mit einer Normalverteilung der Ergebnisse zu rechnen war. Unterschiede zwischen unseren drei Patientengruppen wurden mit Hilfe des nicht parametrischen *Kruskal-Wallis*-Tests untersucht. Die Signifikanz zwischen zwei Gruppen, wurde mit dem *Mann-Whitney-U*-Test geprüft. Das Signifikanzniveau wurde bei $p < 0,05$ festgelegt.

Um die Korrelation sowohl zwischen den einzelnen Parametern der Sydney-Klassifikation und den dazugehörigen Zellzahlen, als auch der Ergebniswerte untereinander zu berechnen, bedienten wir uns *des Spearman- Rho- Koeffizienten*. Dabei galt:

Signifikante Korrelation = Korrelationskoeffizient $r > 0,3$ und Signifikanzniveau $p < 0,05$.

Eine graphische Umsetzung der Werte erfolgte in Box-Plots, in welchen die Werte der 25. - 75. Perzentile als Box dargestellt sind (Interquartilenabstand). Der Median ist als schwarzer Querbalken innerhalb der einzelnen Boxen ersichtlich. Der T-Balken zeigt die Minimal- und

Maximalwerte an. Diese müssen jedoch von Ausreißern und Extremwerten unterschieden werden. Ausreißer sind per definitionem Werte, die zwischen 1,5 - 3 Boxenlängen vom oberen, bzw. unteren Rand der Box-Plots entfernt liegen. Sie werden durch Markierung als kleine Kreise dargestellt. Extremwerte liegen danach mehr als 3 Boxenlängen von den Begrenzungen der Plots entfernt und werden durch Sternchen repräsentiert.

3.7 Material

3.7.1 Glas- und Plastikmaterialien

An Glas- und Plastikmaterialien wurden Gegenstände verschiedener Firmen verwendet.

Deckgläser (2,4 cm x 6,4 cm)	Firma Langenbrinck
Färbeküvetten mit Einsatz	Firma Merck
Objektträger (8- und 10- fach)	Firma Hölzel und Langenbrinck
Pipetten (0 –10 µl; 10 –100 µl; 20 –1000 µl)	Firma Eppendorf
Pipettenspitzen	Firma Eppendorf
Einmalpipetten, Tiefkühl Dosen, OT- Boxen	Firma Peske
Petrischalen	Firma Greiner

Tabelle 1: Glas- und Plastikmaterialien

3.7.2 Geräte

In der folgenden Tabelle werden alle benötigten Geräte aufgelistet.

- 20°C	Firma Bosch
- 80°C	Firma Kendro
Kühlschrank + 4°C	Firma Bosch
Gefrierschränke	
Messer für Mikrotom	Firma Leica
Mikroskop	Firma Leica
Software dhs Bilddatenbank	Firma dhs- Solution
PC	Intel
Videofarbkamera	

Tabelle 2: Geräte

3.7.3 Chemikalien

Zur Anfärbung der histologischen Schnitte wurden folgende Chemikalien verwendet.

Formaldehyd, 37 %	Firma Sigma
Formaldehyd, 4 %	Klinikapotheke
DAB	Firma DAKO
Portagerm	Firma Bio Merieux
Hämalaun	Firma Meyer
Tissue-Tek	Firma Miles
Peroxidase-Blocking-Reagent	Firma DAKO
Glyceringelatine	Firma Kaiser
Di-natriumhydrogenphosphat	Firma Sigma
Kalium-di-hydrogenphosphat	
NaCl	

Tabelle 3: Chemikalien

3.7.4 Antikörper

Zur Anfärbung der immunhistochemischen Schnitte wurden verschiedene Antikörper in unterschiedlicher Verdünnung verwendet.

Antikörper	Zelluläre Expression / Funktion	Herkunft
CD11a	Lymphozyten, Granulozyten, Monozyten und Makrophagen	
CD11b	Myeloide Zellen und NK-Zellen	
CD18	Leukozyten	
CD54	Hämatopoetische und nichthämatopoetische Zellen	
CD62L	B-Zellen, T-Zellen, Monozyten, NK-Zellen	
CD106	Endothelzellen	
CD162	Neutrophile Zellen, Lymphozyten, Monozyten	
IgG2a,2b	Isotyp- Kontrolle	PharMingen
IgG1	Isotyp- Kontrolle	Prof. Rieber
P 260	Peroxidase markierter Sekundärantikörper	DAKO

Tabelle 4: Antikörper

4 Ergebnisse

4.1 Patientengruppen

Die folgende Grafik gibt eine genaue Aufteilung der 70, in die Studie eingeschlossenen Kinder, in drei Patientengruppen wieder. Gruppe 1 beinhaltet alle Kinder mit nachgewiesener Infektion mit *H. pylori*, Gruppe 2 die Kinder ohne *H. pylori*-Infektion mit möglicher, bzw. nachgewiesener Magenerkrankung und Gruppe 3 Kinder bei denen eine Magenerkrankung ausgeschlossen wird oder unwahrscheinlich erscheint. Bei der Aufteilung wurde der Altersmedian, die geschlechtliche Verteilung unter den Kindern und der Anteil an deutschen und ausländischen Kindern berücksichtigt (91).

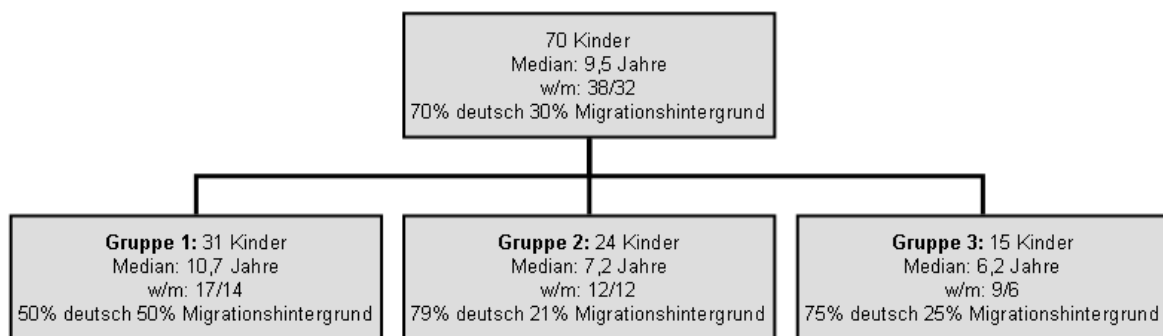


Abbildung 3: Einteilung der Patientengruppen

4.1.1 Gruppe eins: Patienten mit verifizierter *H. pylori*-Infektion

31 der 70 untersuchten Kinder zeigten eine Infektion mit *H. pylori*, wobei 17 Mädchen und 14 Jungen davon betroffen waren. Der Altersmedian dieser Gruppe lag bei 10,7 Jahren (Range 3,5 - 17 Jahre) und somit um ca. ein Jahr höher als der Altersmedian der Gesamtgruppe. Je 10 der Kinder kamen gebürtig aus Deutschland und der Türkei ($n_{1,2}=10$). 5 Kinder waren afghanischer Herkunft, 4 Kinder kamen aus dem ehemaligen Jugoslawien, 2 der Kinder waren in Italien geboren und je ein Kind stammte aus Afrika, Polen und Südamerika.

4.1.1.1 *H. pylori*-Status der Patienten

Bei allen Kindern der Gruppe 1 lagen mindestens drei positive Untersuchungsergebnisse vor, so dass von einer sicheren *H. pylori*-Infektion ausgegangen werden konnte.

Eine kulturelle Anzüchtung des empfindlichen Keims gelang in drei Fällen nicht, was auf Fehler beim Transport und störende Umwelteinflüsse zurückzuführen sein könnte. Eine Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung zur Diagnostik war in 12 Fällen durchgeführt worden.

4.1.1.2 Familien- und Medikamentenanamnese und frühere *H. pylori*-Eradikationstherapie

Eine Eradikationstherapie des Keimes war in der Vergangenheit bei sieben der *H. pylori*-positiven Kinder durchgeführt worden. Vier dieser Kinder (Pat. 12, 13, 24, 27) hatten eine einmalige, zwei (Pat. 4,5) eine zweimalige und eines (Pat. 21) sogar eine mehrfache anti-*H. pylori*-Therapie hinter sich gebracht. 30 der 31 erkrankten Kinder klagten über abdominelle Schmerzen.

Drei Kinder wiesen eine zusätzliche Diagnose auf. Ein Kind (Pat. 8) litt unter einer kleinen Hiatushernie und daraus entstandener Ösophagitis Grad I. Ein anderes Kind (Pat. 22) zeigte eine Laktose-Maldigestion und bei einem dritten Kind (Pat. 24) wurden asymptomatische Gallensteine festgestellt. Es wurden zwei Geschwistergruppen in die Studie aufgenommen. Davon stammten zwei der Geschwister (Pat. 6, 9) aus einer türkischen Familie, aus einer afghanischen Familie waren es sogar fünf (Pat. 20, 23, 29, 30, 31). Bei sechs Kindern konnte eine positive Familienanamnese auf *H. pylori* gestellt werden (Pat. 3, 5, 10, 11, 19, 24). Zwei der Kinder (Pat. 14, 22) hatten nachweislich gesunde Angehörige, bei den übrigen 16 Kindern konnten keine eindeutigen Ergebnisse eingebracht werden.

4.1.2 Gruppe 2: *H. pylori*-negative Kinder mit sicherer oder möglicher Magenerkrankung

39 der 70 untersuchten Kinder wurden negativ auf *H. pylori* getestet. 24 davon wurden in die Gruppe 2 aufgenommen, da sie Krankheiten zeigten, die mit einer sicheren oder möglichen Magenbeteiligung vergesellschaftet sind. Der Altersmedian lag hier bei 7,2 Jahren (Range: 0,9 - 17,5 Jahre) und somit 3,5 Jahre unter dem der Kinder aus Gruppe 1. Die große Mehrzahl der Kinder dieser Gruppe stammte aus Deutschland (n=19). Zwei Kinder waren türkischen Ursprungs und je ein Kind war in Italien, Ex-Jugoslawien und Afghanistan geboren.

4.1.2.1 Diagnosen und Symptomatik der Kinder aus Gruppe 2

Die Kinder dieser Patientengruppe wurden entweder zur Abklärung gastrointestinaler Symptome oder zur Verlaufskontrolle von bekannten Erkrankungen des Gastrointestinaltraktes endoskopisch untersucht.

Wegen Erkrankungen des Magens wurden 11 Kinder endoskopiert (Pat. 36, 37, 39, 42, 43, 46, 47, 49, 50, 53, 55). Fünf Kinder zeigten einen hoch-, bzw. höchstgradigen gastrointestinalen Reflux (GÖRK) (Pat. 36, 46, 49, 53, 55), weshalb eines dieser Kinder (Pat. 49) zum Studienzeitpunkt mit einem Protonenpumpenhemmer (Omeprazol: Antra[®]) behandelt wurde.

Bei fünf Kindern (Pat. 37, 43, 46, 47, 49,) wurde eine Verlaufskontrolle nach erfolgreich eradiziertem Keim *H. pylori* durchgeführt, um den Fortbestand eines in der Vergangenheit bestandenen Ulcus duodeni (Pat. 37, 47) oder eine erneute Beschwerdesymptomatik zu klären. Ein Patient zeigte eine varioliforme Gastritis bei bestehender Autoimmunthyreoiditis Hashimoto (Pat. 42), ein anderer litt an einer Infektion mit *H. heilmanii* (Pat. 39) und ein dritter zeigte endoskopisch eine streifige Rötung der gesamten Magenmukosa (Pat. 50) bei klinisch stärksten epigastrischen Schmerzen.

32	M. Crohn, Lactose-Intoleranz	Antibiose
33	Zöliakie	Keine
34	Zöliakie	Keine
35	M. Hirschsprung, Z.n.Kolektomie, Crohn like Disease	Steroide, Immunsuppressiva
36	GÖRK, Z.n. Funduplikatio	Cisaprid
37	Z.n. H. pylori-Infektion mit Ulcus duodeni, Eradikation vor 11 Monaten, Laktose- Intoleranz	Lactase
38	V.a. Zöliakie (Spez. AK erhöht), Nahrungsmittelallergie, Trisomie 21	Keine
39	H. heilmanii-Infektion	Eisen-Substitution
40	Neurodermitis, allergische Rhinitis, GÖRK I	Keine
41	Pankolitis	Steroide, Antibiose
42	Varioliforme Gastritis, Autoimmunthyreoiditis mit Hypothyreose	Schilddrüsenhormone
43	Z.n. H. pylori-Infektion mit Eradikation 3/96, GÖRK I	Cisaprid
44	M. Crohn, Nahrungsmittelallergie	Keine
45	Zöliakie	Keine
46	Z.n. H. pylori-Infektion mit Eradikation 7/97, Z.n. GÖRK	Keine
47	Z.n. H. pylori-Infektion mit Ulcus duodeni	Keine
48	Zöliakie, ASD II	Keine
49	Z.n. H. pylori-Infektion mit Eradikation, GÖRK, Sandifer-Syndrom, intestinale Mastzellinfiltration	Antra
50	Stärkste epigastrische Schmerzen	Keine
51	Zöliakie	Keine
52	Allergie (periphere Eosinophilie 25%)	Keine
53	GÖRK, entwicklungsneurologische Retardierung	Keine
54	Z.n. schwerer allergischer ulcerativer Colitis, Duodenitis, Ösophagitis, Neurodermitis	Perenterale Ernährung
55	Allergische Rhinitis, Neurodermitis	Keine

Tabelle 5: Auflistung der Patienten aus Gruppe 2

An Erkrankungen des Darms litten 13 der Kinder in Gruppe 2 (Pat. 33, 34, 35, 38, 40, 41, 44, 45, 48, 51, 52, 54,55). Fünf Kinder waren nachweislich an Zöliakie erkrankt (33, 34, 45, 48, 51), Drei Kinder litten an Kohlenhydratintoleranz im Zuge eines Laktasemangels (32, 37, 47). Bei einem Kind lag der Verdacht auf Zöliakie, wegen stark erhöhter, spezifischer Antikörper (Gliadin-IgG-AK positiv; Gliadin-IgA-AK negativ; Endomysium-IgA-aK positiv) vor, der histologisch nicht bestätigt werden konnte (Pat. 38). Dieses Kind litt zusätzlich, wie noch ein weiterer Patient, an ein verschiedenen Nahrungsmittelallergien (Pat. 38, 44).

Bei drei Kindern war ein M. Crohn bekannt (Pat. 32,35, 44), ein Kind hatte eine Pankolitis (Pat. 41) und ein weiteres wurde wegen allergisch bedingter ulcerativer Colitis, Duodenitis und Ösophagities kontrollendoskopiert (Pat. 54). Zwei Patienten wovon der eine an Typ I Allergie und starker peripherer Eosinophilie (Pat. 52), und der andere an allergischer Rhinitis und Neurodermitis litt (Pat. 40), wurden in Gruppe zwei aufgenommen, da bei diesem Beschwerdebild eine Magenbeteiligung nicht ausgeschlossen ist.

Drei der an Darmerkrankungen leidenden Kinder nahmen Immunsuppressiva (Pat. 35), Steroide (Pat. 35, 41) oder Antibiotika (Pat. 32, 41) ein. Zur besseren Übersicht dieser Gruppe führt die nachfolgende Tabelle alle Patienten der Gruppe 2 mit Diagnosen und Medikamenten erneut auf.

4.1.3 Gruppe 3: *H. pylori*-negative Kinder mit ausgeschlossener oder unwahrscheinlicher Magenerkrankung

15 *H. pylori*-negative Kinder, die nicht der Gruppe 2 zugeordnet werden konnten bilden diese letzte Gruppe. Bei ihnen ist eine Magenbeteiligung im Zuge ihrer Grunderkrankung nicht wahrscheinlich. Unter diesen Patienten waren neun Mädchen und sechs Jungen. Der Altersmedian lag hier mit 6,2 Jahren (Range: 1,6 - 15,7 Jahre) deutlich niedriger als jener der beiden anderen Gruppen. Zehn dieser Kinder waren aus Deutschland, zwei Kinder waren türkischer Abstammung und je ein Kind war in den USA und Russland geboren.

4.1.3.1 Diagnosen und Symptomatik der Kinder aus Gruppe 3

Drei der 15 Kinder dieser Gruppe litten an GÖRK Grad 1 (Pat. 57, 66, 69), bei vier Kindern konnte der, wegen unspezifischen Oberbauchbeschwerden geäußerte Verdacht auf Refluxösophagitis, endoskopisch nicht bestätigt werden (Pat. 60, 61, 62, 63). Drei weitere Kinder litten an rezidivierenden epigastrischen Beschwerden ohne makroskopischem, oder mikroskopischem Korrelat (Pat. 56, 59, 65) und eine Kind zeigte eine chronische Nahrungsverweigerung, die endoskopisch nicht geklärt werden konnte, da das makroskopische Bild nur eine abgeheilte Ösophagitis zeigte (Pat. 64). Ein Kind wurde wegen Verdacht auf Zöliakie (erhöhte Gliadin-IgG-AK und Gliadin-IgA-AK) endoskopierte, ohne hier das typische makroskopische und mikroskopische Korrelat zu entdecken (Pat. 67). Ein weiteres Kind litt unter einer Innervationsstörung des unteren Ösophagus, im Sinne einer Achalasie (Pat. 70) und das letzte Kind dieser Gruppe zeigte eine schwere mentale Retardierung (Pat. 68). Hier wurde im Zuge einer PEG-Anlage eine Magenbiopsie entnommen. Keines der Kinder dieser Gruppe hatte die letzten sechs Wochen vor der Biopsieentnahme Medikamente, wie Antibiotika, Immunsuppressiva oder Protonenpumpenhemmer eingenommen. Die nachfolgende Tabelle gibt den Sachverhalt noch einmal wieder.

Patientennummer	Diagnosen
56	epigastrische Oberbauchschmerzen
57	GÖRK I, Cerebralparese bei Frühgeburt
58	GÖRK I, kleine Hiatushernie
59	epigastrische Oberbauchschmerzen
60	V.a. Refluxösophagitis
61	V.a. Refluxösophagitis
62	V.a. Refluxösophagitis
63	V.a. Refluxösophagitis
64	Nahrungsverweigerung
65	epigastrische Oberbauchschmerzen
66	GÖRK I
67	Ausschluss einer Zöliakie
68	Hirnfehlbildung, Epilepsie, PEG-Anlage
69	GÖRK I, V.a. psychomotorisches Schmerzsyndrom
70	Achalasie

Tabelle 6: Patienten der Gruppe 3 ohne Hinweis auf Magenerkrankung

4.2 Endoskopisch erhobene Befunde

4.2.1 Veränderungen im Ösophagus

10 der 70 Kinder unserer Studie zeigten Veränderungen im Sinne einer Ösophagitis. Davon betroffen waren ein Kind der Gruppe 1 (Pat. 8), vier Kinder der Gruppe 2 (Pat. 40, 43, 49, 53) und 5 Patienten der Gruppe 3 (Pat. 57, 63, 65, 66, 69). Der Schweregrad dieser entzündlichen Erkrankung wurde in allen Fällen mit Grad 1, in der Einteilung nach Savary und Miller aus dem Jahr 1978, bewertet. Drei Kinder zeigten Anzeichen einer leichten chronischen Ösophagusschleimhautveränderung, wie sie oft bei der Abheilung einer Ösophagitis auftritt.

Davon waren betroffen: ein Kind der Gruppe 2 (Pat. 46) und zwei Kinder der Gruppe 3 (Pat. 61, 64). Ein Kind der Gruppe 1 zeigte eine kleine Hiatushernie. Die übrigen Kinder zeigten einen endoskopisch unauffälligen Ösophagus.

4.2.2 Veränderungen im Antrum

30 der 31 *H. pylori*-infizierten Kinder zeigten eine Nodularität im Antrum. Nur Patient 24 zeigte dieses, bei Kindern mit *H. pylori*-Infektion übliche Phänomen, nicht. Sechs dieser 31 Kinder zeigten zusätzlich eine Rötung der Antrumschleimhaut

Von den Kindern der Gruppe 2 zeigte ein *H. pylori* negatives Kind ebenfalls eine nodulare Veränderung der Schleimhaut (Pat. 46). Dieses Kind war in der Vergangenheit erfolgreich anti-*H. pylori* therapiert worden. Ein Kind zeigte eine streifige Rötung der gesamten Magenmukosa (Pat. 50). Die übrigen Kinder blieben hier endoskopisch unauffällig.

4.2.3 Veränderungen im Duodenum

Im Duodenum zeigten nur zwei Kinder der Gruppe 1 Auffälligkeiten. Bei beiden reichte die Nodularität bis in den Zwölffingerdarm (Pat. 5, 12). Alle übrigen Kinder zeigten ein blandes Duodenum.

4.3 Auffälligkeiten nach der Sydney-Klassifikation im Antrum

4.3.1 Entzündungsaktivität

Die Zahl der neutrophilen Granulozyten im Magenantrum stellten einen sensiblen Parameter für die Aktivität einer Entzündung mit *H. pylori* dar (13). Wie in Punkt 1.2. beschrieben, könnte ein Teil der Gewebsschädigung im Entzündungsbereich durch O₂-Derivate und Proteasen der Neutrophilen entstehen (39). Aber schon wenige Tage nach erfolgreicher Eradikation sind diese Leukozyten nicht mehr im Gewebe nachweisbar. Deshalb war es auch kein überraschendes Ergebnis, dass die an *H. pylori* erkrankten Kinder stets eine dichtere Besiedlung mit neutrophilen Granulozyten aufwiesen, als die nicht infizierten. In Gruppe 3

zeigte keines der Kinder eine solche Besiedlung.

Anhand der Entzündungsaktivität ließen sich die *H. pylori*-infizierten Kinder der Gruppe 1 und die nicht Infizierten der Gruppen 2 und 3 signifikant voneinander unterscheiden ($p < 0,0001$). Gruppe 2 und 3 zeigten im direkten Vergleich keinen signifikanten Unterschied.

Die folgende Tabelle zeigt den Grad der Entzündungsaktivität der einzelnen Gruppen:

Entzündungs- aktivität	Gruppe 1: H. pylori-positive Kinder (n = 31)	Gruppe 2: H. pylori-negative Kinder mit Hinweis auf Magenerkrankung (n = 24)	Gruppe 3: H. pylori- negative Kinder ohne Hinweis auf Magenerkrankung (n = 15)
Grad 0	2 6,4 %	22 91,6 %	15 100 %
Grad 1	14 45,2 %	1 4,2 %	-
Grad 2	14 45,2 %	1 4,2 %	-
Grad 3	1 3,2 %	-	-

Tabelle 7: Entzündungsaktivität im Antrum (Grad 0-3)

4.3.2 Entzündungschronizität

In der Lamina propria eines gesunden Menschen sind nur sehr wenige Lymphozyten sichtbar. Ein Anstieg deutet also auf einen chronischen Entzündungsprozess hin. Nach einer Keimeradifikation können noch bis zu einem Jahr später lymphomonozytäre Zellinfiltrate nachgewiesen werden (39). Den Chronizitätsgrad der Antrumbiopsien unserer untersuchten Kinder kann man der nachfolgenden Tabelle 8 entnehmen.

Chronizität	Gruppe 1: H. pylori-positive Kinder (n = 31)	Gruppe 2: H. pylori-negative Kinder mit Hinweis auf Magenerkrankung (n = 24)	Gruppe 3: H. pylori- negative Kinder ohne Hinweis auf Magenerkrankung (n = 15)
Grad 0	-	3 12,5 %	2 13,3 %
Grad 1	1 3,3 %	18 75 %	13 86,7 %
Grad 2	24 77,4 %	3 12,5 %	-
Grad 3	6 19,3 %	-	-

Tabelle 8: Chronizität der Entzündung im Antrum

Es gab einen signifikanten Unterschied im Chronifizierungsgrad zwischen Kindern der Gruppe 1 und denen der Gruppen 2 und 3 mit $p < 0,001$. Die Gruppen 2 und 3 untereinander zeigten auch hier keinen signifikanten Unterschied in ihrer Ausprägung.

4.3.3 *H. pylori*-Dichte

Alle Kinder, die im ^{13}C -Harnstofftest positiv auf *H. pylori* getestet wurden, zeigten auch einen histologisch nachweisbaren Bakterienbefall. Bei einem chronischen Befall mit dem Keim korreliert die Bakteriendichte möglicherweise mit keimassoziierten Erkrankungen.

Ein Kind der Gruppe 2 hatte einen Befall der Magenmukosa mit *H. heilmanii* (Pat. 39). Dieses Kind wurde in der folgenden Tabelle nicht berücksichtigt, da die Bakteriendichte vom Grad 2, die in der Biopsie gefunden wurde, nicht mit einer *H. pylori*-assoziierten Bakteriendichte zu verwechseln ist.

H. pylori-Dichte	Gruppe 1: H. pylori-positive Kinder (n = 31)	Gruppe 2: H. pylori-negative Kinder mit Hinweis auf Magenerkrankung (n = 24)	Gruppe 3: H. pylori-negative Kinder ohne Hinweis auf Magenerkrankung (n = 15)
Grad 0	-	24 100 %	15 100 %
Grad 1	4 12,9 %	-	-
Grad 2	12 38,7 %	-	-
Grad 3	15 48,4 %	-	-

Tabelle 9: Nachgewiesene *H. pylori*-Dichte im Antrum

4.3.4 Atrophie der Magenmukosa

Eine Atrophie der Magenschleimhaut ist definiert durch den Verlust von Drüsengewebe. Eine solche Verschmälerung der Mukosa findet sich regelmäßig bei pathologischen Prozessen in der Magenwand und führt so zu einer Schädigung des Gewebes. Eine Atrophie im Grad 1 trat bei 9 der 70 Kinder aller drei Gruppen auf, ohne dass ein signifikanter Unterschied der Drüsenatrophien zwischen den einzelnen Gruppen vorlag. Tabelle Nr. 10 gibt diesen Sachverhalt wieder.

4.3.5 Intestinale Metaplasie

Erwachsene, die unter einem chronischen Entzündungsprozess leiden, zeigen regelmäßig metaplastische Veränderungen der Schleimhaut. Diese sind umso ausgeprägter, je länger der Zustand der Entzündung besteht. Eine Metaplasie von Gewebe stellt immer eine Prädisposition zur malignen Entartung dar und sollte regelmäßig kontrolliert werden.

Eine solche metaplastische Veränderung fand sich jedoch bei keinem der untersuchten 70 Kindern.

Glanduläre Atrophie	Gruppe 1: H. pylori-positive Kinder (n = 31)	Gruppe 2: H. pylori-negative Kinder mit Hinweis auf Magenerkrankung (n = 24)	Gruppe 3: H. pylori- negative Kinder ohne Hinweis auf Magenerkrankung (n = 15)
Grad 0	27 87,1 %	22 91,7 %	12 80,0 %
Grad 1	4 12,9 %	2 8,3 %	3 20,0 %
Grad 2	-	-	-
Grad 3	-	-	-

Tabelle 10: Glanduläre Atrophie im Antrum

4.4 Qualitative Beurteilung der immunhistochemischen Färbung im Antrum

4.4.1 Vorhandensein von Lymphfollikeln im Antrum

Lymphfollikel sind per Definitionem Lymphozytenansammlungen in der Mukosa, bei welchen ein Keimzentrum sichtbar ist. Die Struktur der Follikel darf dabei nicht von Teilen der Mukosa unterbrochen werden.

Bei 38 der 70 Kinder fanden sich in der mikroskopischen Betrachtung solche Lymphfollikel, die sich in allen Fällen im Zentrum mit B-Zellmarkern und am Rand mit T-Zellmarkern anfärben ließen. Die Gruppe 1 der *H. pylori* positiven Kinder stellte, mit 28 Lymphfollikel enthaltenden Biopsien, fast drei viertel dieser Gruppe. 10 Kinder aus der Gruppe 2 enthielten auch Lymphfollikel in ihrer Biopsie. In Tabelle 11 werden die einzelnen Diagnosen der Kinder dieser Gruppe mit Lymphfollikeln in der Biopsie ersichtlich:

Patientennummer	Diagnose
32	M. Crohn, Laktose-Maldigestion
34	Zöliakie
39	<i>H. heilmanii</i> - Infektion
44	M. Crohn, Nahrungsmittelallergie
45	Zöliakie
46	Z.n. <i>H. pylori</i> -Eradikation, Z.n. GÖRK
48	Zöliakie, ASD II
49	Z.n. <i>H. pylori</i> -Eradikation, GÖRK, Sandifer-Syndrom, intestinale Mastzellinfiltration
52	Allergie mit peripherer Eosinophilie
55	Allergische Rhinitis, Neurodermitis

Tabelle 11: Auflistung der Kinder der Gruppe 2 mit nachgewiesenen Lymphfollikeln im Antrum

In der Gruppe 3 der Kinder ohne wahrscheinliche Magenbeteiligung ihrer Erkrankung, ließen sich bei keinem der Kinder Lymphfollikel nachweisen. Dies wird in Tabelle 12 verdeutlicht.

Lymphfollikel	Gruppe 1: H. pylori-positive Kinder (n = 31)	Gruppe 2: H. pylori-negative Kinder mit Hinweis auf Magenerkrankung (n = 24)	Gruppe 3: H. pylori- negative Kinder ohne Hinweis auf Magenerkrankung (n = 15)	Gesamt- kollektiv (n = 70)
Lymphfollikel vorhanden	28 90 %	10 42 %	0 100 %	38 54,3 %
keine Lymphfollikel vorhanden	3 10 %	14 58 %	15 100 %	32 45,7 %

Tabelle 12: Vorkommen von Lymphfollikeln in Antrumbiopsien in den einzelnen Gruppen (Prozentangaben beziehen sich auf die jeweilige Gruppe)

4.5 Quantitative Beurteilung der immunhistochemischen Färbung im Antrum

Eine Anfärbung von Adhäsionsmolekülen konnte bei 65 Kindern erreicht werden. Dabei

zeigte sich jedoch, dass die unterschiedlichen Adhäsionsmoleküle auch ein unterschiedliches Färbeverhalten aufwiesen. CD54 konnte in der Lamina propria bei 60 Kindern angefärbt werden. Dies gelang nicht bei den Probanden der Nummern 9, 11, 27, 30 und 54. Bei CD18 verhielt es sich ähnlich. Auch hier konnte eine des Moleküls in der Lamina propria bei fünf Kindern (2,8, 27, 30, 60) nicht erreicht werden. Wenn die Anfärbung nicht gelang lag das meist an zu kleinen Präparaten, die nicht ausgewertet werden konnten, schlecht geschnittenen, bzw. löchrigen oder zerstörten Präparaten. Bei CD11b handelte es sich um sechs Kinder, (8, 11, 27, 37, 54,55) deren Präparate nicht ausreichend angefärbt werden konnten und bei CD11a (Kind 8, 11, 37, 39, 54, 55, 68), CD106 (Kind 8, 11, 16, 30, 37, 39, 54) und CD162 (Kind 17, 27, 36, 39, 59, 60, 61) mussten je sieben Präparate aufgrund mangelhafter Präparate aus der Arbeit ausgeschlossen werden.

Signifikanter wurden die Probleme beim Anfärben jedoch bei CD62L. Hier konnten lediglich 32 der 65 Präparate der Lamina propria angefärbt werden.

4.5.1 Adhäsionsmoleküle in der Lamina propria

4.5.1.1 CD106-positive Zellen

CD106 konnte bei 55 von 58 Kindern nachgewiesen werden. Eines der drei Kinder bei denen kein CD106 in der Lamina propria angefärbt werden konnte, gehörte der Gruppe zwei an (55), die beiden anderen Kinder der Gruppe 3 ohne Nachweis auf eine Magenerkrankung (56,63). *H. pylori*-infizierte Kinder konnten anhand dieses Moleküls von den nicht infizierten Kindern signifikant abgegrenzt werden. Dabei betrug die Signifikanz zwischen Gruppe 1 und Gruppe 2 $p < 0,003$ und zwischen Gruppe 1 und Gruppe 3 $p < 0,000$. Eine signifikante Unterscheidung zwischen den beiden *H. pylori*-negativen Gruppen konnte nicht gezeigt werden. Die Tabelle 13 gibt den Sachverhalt wieder, wobei die CD106-positiven Zellen pro Quadratmillimeter angegeben werden.

Gruppe	Charakterisierung	Anzahl	Median	Minimum	Maximum
1	H. pylori-positiv	24	1	0,4	2,53
2	H. pylori-negativ mit Hinweis auf Magenerkrankung	20	0,46	0.00	1,82
3	H. pylori-negativ ohne Hinweis auf Magenerkrankung	14	0,24	0	1,07

Tabelle 13: Nachgewiesene CD106-positive Zellen pro mm² und deren Verteilung mit Median, Minimum und Maximum innerhalb der verschiedenen Patientengruppen

Das nachfolgende Boxplot-Diagramm veranschaulicht die in der Tabelle aufgeführten Werte für CD106 und stellt das Signifikanzniveau der Gruppen untereinander dar.

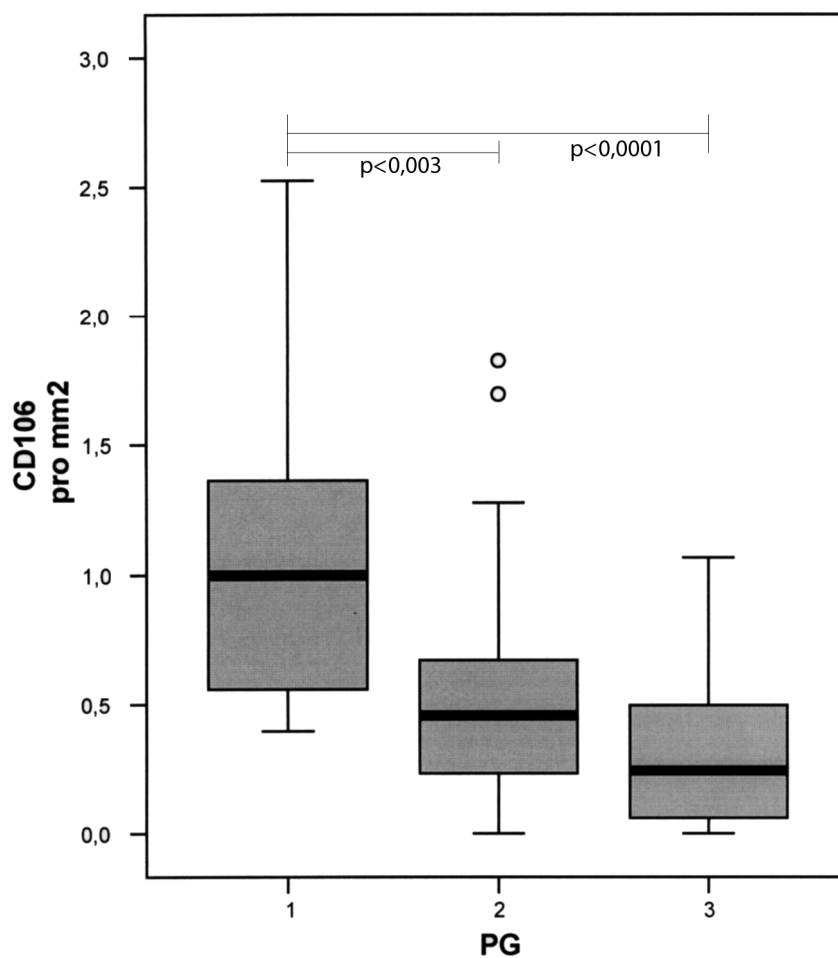


Abbildung 4: CD106-Expression für die einzelnen Gruppen mit Median, IQR, Minimum, Maximum und Ausreißern

Bei der Betrachtung des Diagramms fallen in Gruppe 2 zwei Kinder mit hoher CD106-positiver Zellzahl auf, die als Ausreißer gewertet wurden. Die übrigen Marker dieser beiden Kinder in der Lamina propria stellten sich unauffällig dar.

4.5.1.2 CD11b-positive Zellen

CD11b-positive Zellen konnten bei 49 der 58 Kinder nachgewiesen werden. Von den 9 Kindern die keine Färbung des Moleküls zeigten, gehörte ein Kind der Gruppe 1 (4) , fünf Kinder der Gruppe 2 (36, 41, 47, 48, 49) und drei Kinder der Gruppe 3 (58, 64, 68) an. Kinder der Gruppe 1 mit nachgewiesener Infektion mit *H.pylori* konnten signifikant von den beiden anderen Gruppen abgetrennt werden. Die Signifikanz zwischen Gruppe 1 und Gruppe 2 betrug dabei $p < 0,001$ und zwischen Gruppe 1 und Gruppe 3 $p < 0,09$. Auch bei diesem Molekül konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden *H. pylori*-negativen Gruppen festgestellt werden. Die nachfolgende Tabelle spiegelt die exakten Zahlenverhältnisse wieder.

Gruppe	Charakterisierung	Anzahl	Median	Minimum	Maximum
1	<i>H. pylori</i> -positiv	25	0,26	0	0,69
2	<i>H. pylori</i> -negativ mit Hinweis auf Magenerkrankung	20	0,06	0	0,56
3	<i>H. pylori</i> -negativ ohne Hinweis auf Magenerkrankung	13	0,06	0	0,51

Tabelle 14: CD11b-positive Zellen pro mm² und deren Verteilung inklusive Median, Minimum und Maximum in den drei untersuchten Gruppen

Das nachfolgende Box-Plot Diagramm verdeutlicht auch hier das Signifikanzniveau der einzelnen Gruppen zueinander. Dabei werden in Gruppe 2 drei Kinder und in Gruppe 3 ein Kind mit hohen CD11b-positiven Zellzahlen sichtbar. Da diese Kinder bei Betrachtung der übrigen Marker unauffällig blieben, werden sie als Ausreißer bewertet.

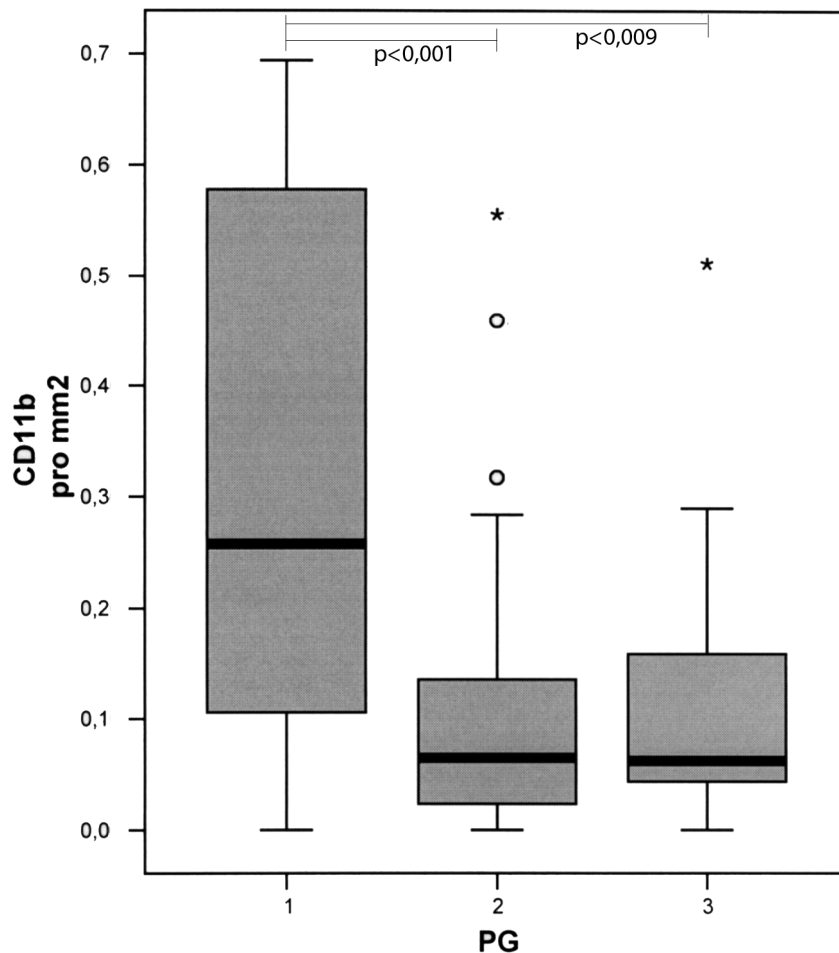


Abbildung 5: CD11b-Expression in der Lamina propria (Median, IQR, Minimum, Maximum und Ausreißer) pro mm²

4.5.1.3 CD54-positive Zellen

In der Lamina propria waren bei allen Kindern der verschiedenen Gruppen CD54-positive Zellen nachweisbar. Kinder mit *H. pylori*-Infektion unterschieden sich hinsichtlich diesen Markers nicht signifikant von den nicht-infizierten Kindern ($p = 0,238$). Auch bei den nicht-infizierten Kinder der Gruppen 2 und 3 untereinander, war ein Signifikanzunterschied bei $p = 0,594$ nicht gegeben. (siehe Tabelle 15)

Das Streudiagramm (Abbildung 6) verdeutlicht die Anzahl CD54-positiver Zellen der verschiedenen Patientengruppen in der Lamina propria. Die Nummerierung neben den Kästchen gibt die Patientenummer der Kinder an. Auffallend dabei ist, dass bei allen

Kindern der Studie, unabhängig ihrer Gruppenzugehörigkeit, CD54 in der Lamina propria nachgewiesen werden konnten.

Gruppe	Charakterisierung	Anzahl	Median	Minimum	Maximum
1	<i>H. pylori</i> -positiv	23	1,42	0,29	3,89
2	<i>H. pylori</i> -negativ mit Hinweis auf Magenerkrankung	22	1,67	0,48	4,9
3	<i>H. pylori</i> -negativ ohne Hinweis auf Magenerkrankung	14	1,72	0,08	2,75

Tabelle 15: CD54-Expression der Lamina propria mit Median, Minimum und Maximum der einzelnen Gruppen pro mm²

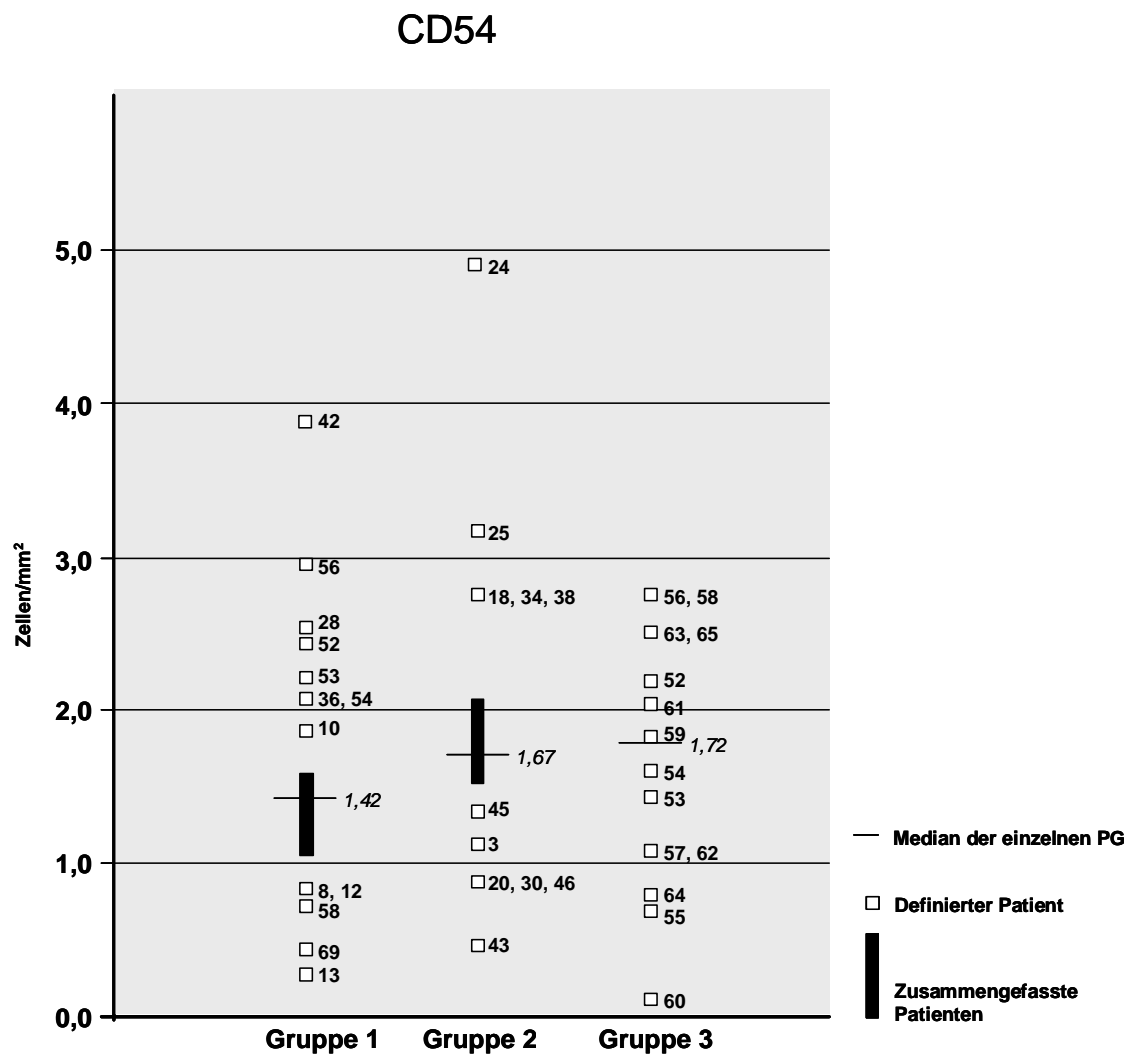


Abbildung 6: Streudiagramm der CD54-Expression der 3 Gruppen in der Lamina propria, wobei weiße Kästchen einzelne Patienten darstellen und schwarze Balken mehrere Patienten mit ähnlicher Molekülzahl pro mm²

Unter den ausgefüllten Kästchen verbergen sich mehrere Patienten, deren Zellzahlen so eng beieinander lagen, dass sie zusammengefasst wurden, um die Tabelle übersichtlich zu halten.

4.5.1.4 CD162-positive Zellen

Bei diesem Molekül zeigten alle 57 Kinder mit Färbung CD162-positive Zellen in der Lamina propria. Bei einem Median der Gruppe 1 von 0,56, der Gruppe 2 von 0,63 und der Gruppe 3 von 0,65 wurde weder ein signifikanter Unterschied der Gruppen untereinander deutlich, als auch zwischen *H. pylori*-positiven und negativen Kindern. Es zeigte sich jedoch, dass, noch vor der Gruppe 2, die Gruppe 3 der Kinder ohne Nachweis auf Magenerkrankung, zu leicht höheren Werten als die der *H. pylori*-infizierten Kindern tendiert. Die nachfolgende Tabelle verdeutlicht den Zusammenhang noch einmal.

Gruppe	Charakterisierung	Anzahl	Median	Minimum	Maximum
1	<i>H. pylori</i> -positiv	25	0,56	0,05	1,64
2	<i>H. pylori</i> -negativ mit Hinweis auf Magenerkrankung	21	0,63	0,22	1,92
3	<i>H. pylori</i> -negativ ohne Hinweis auf Magenerkrankung	11	0,65	0,07	1,74

Tabelle 16: CD162-positive Zellen pro mm² mit Median, Minimum und Maximum in den einzelnen Gruppen

Das Streudiagramm (Abbildung 7) zeigt die Zellzahlen der CD162-positiven Zellen. Unter den ausgefüllten Kästchen wurden wiederum mehrere Kinder zusammengefasst.

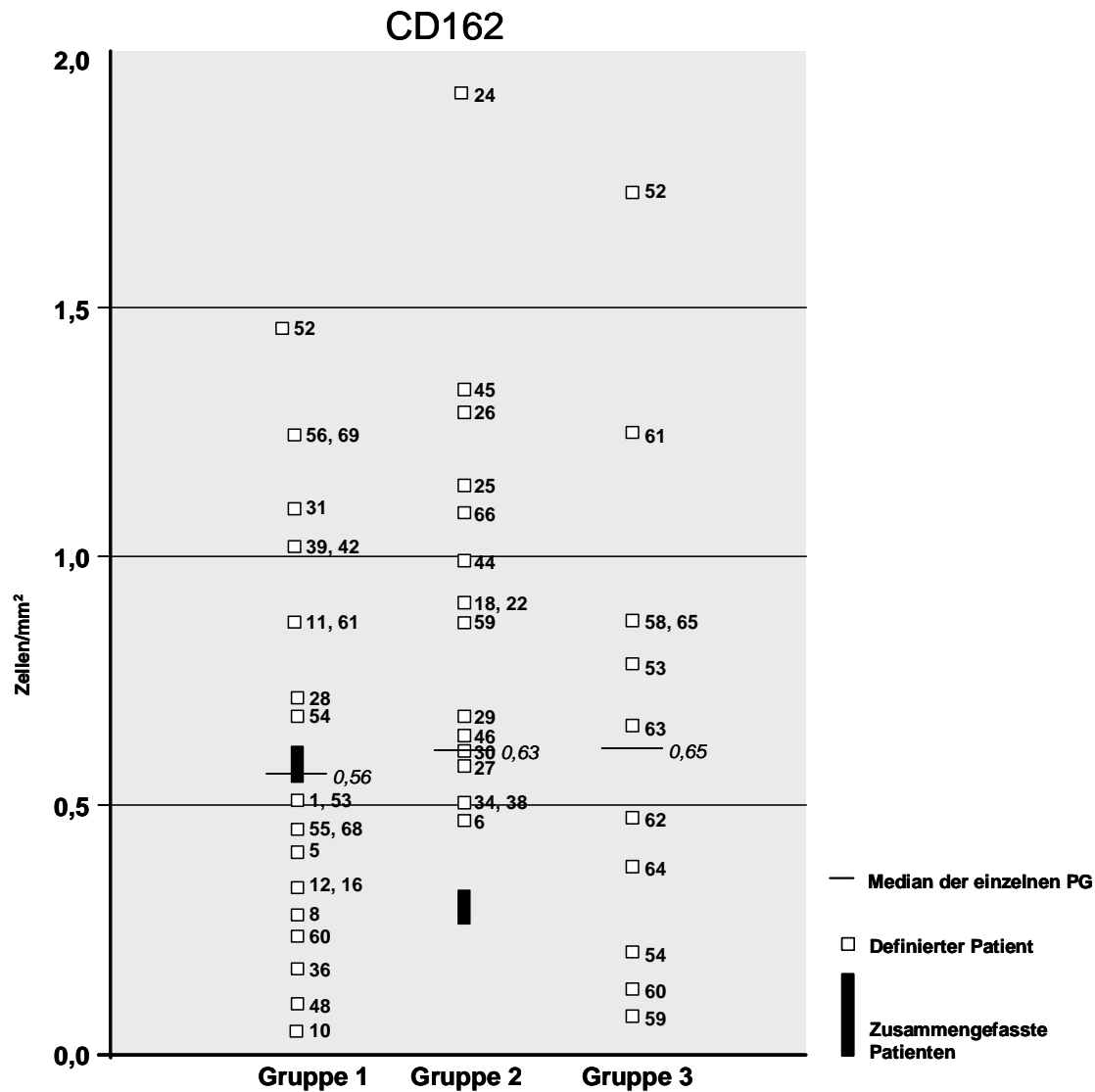


Abbildung 7: Streudiagramm der CD162-Expression pro mm² der 3 Gruppen

4.5.1.5 CD18-positive Zellen

CD18 konnte bei allen 60 Kindern in der Lamina propria nachgewiesen werden. Dabei zeigte sich jedoch kein signifikanter Unterschied in der Zahl der angefärbten Zellen zwischen der *H. pylori*-positiven Gruppe 1 und den *H. pylori*-negativen Gruppen 2 und 3. Auch zwischen Gruppe 2 und 3 der *H. pylori*-negativen Kindern war eine signifikante Differenzierung anhand des Färbeverhaltens des Moleküls nicht möglich.

Tabelle 17 gibt diesen Sachverhalt wieder.

Gruppe	Charakterisierung	Anzahl	Median	Minimum	Maximum
1	<i>H. pylori</i> -positiv	24	0,71	0,11	1,17
2	<i>H. pylori</i> -negativ mit Hinweis auf Magenerkrankung	23	0,65	0,05	1,63
3	<i>H. pylori</i> -negativ ohne Hinweis auf Magenerkrankung	13	0,61	0,06	1,27

Tabelle 17: CD18-Expression pro mm² mit Median, Minimum und Maximum im Patientenkollektiv

Im nachfolgenden Boxplot-Diagramm (Abbildung 8) ist eine Visualisierung dieser Daten zu sehen.

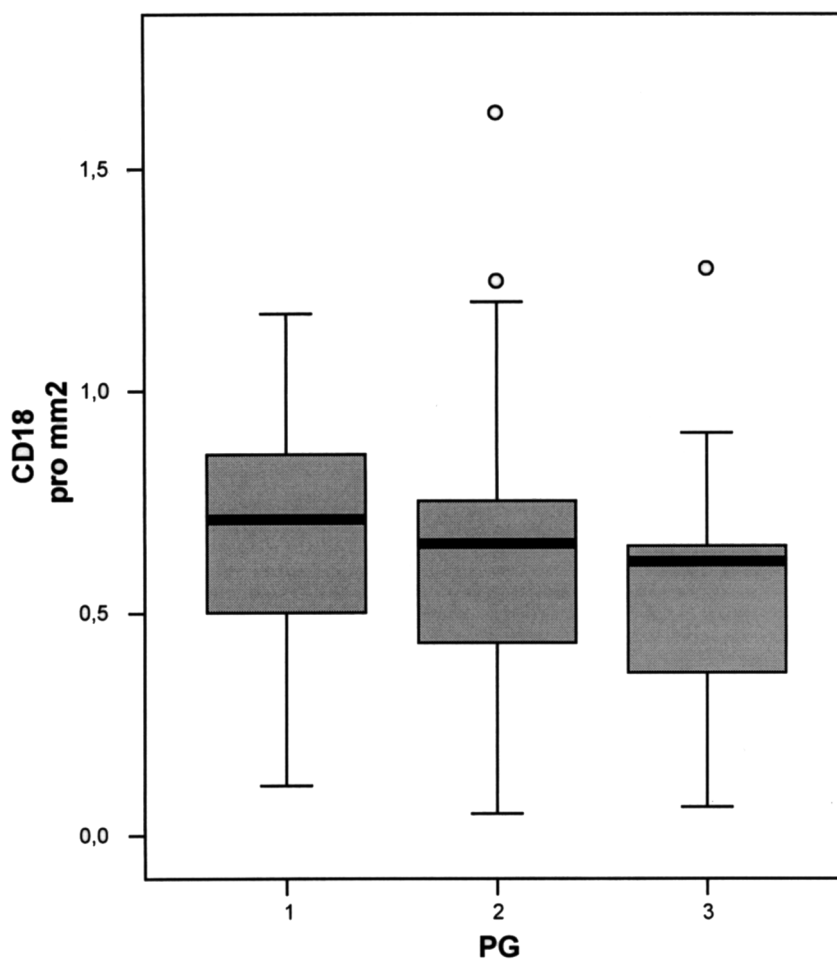


Abbildung 8: CD18-Expression pro mm² (Median, IQR, Minimum, Maximum und Ausreißer)

4.5.1.6 CD11a-positive Zellen

Dieses Molekül konnte bei zwei der 57 Kinder nicht nachgewiesen werden. Beide Kinder gehörten der Gruppe 1 an, also jener Kinder mit positivem Nachweis von *H. pylori*. Des

Weiteren zeigte sich, dass der Median der Gruppe 2 mit Nachweis auf Magenerkrankung höher lag, als jener der Gruppe 1. Die Mediane von Gruppe 1 und 3 lagen relativ dicht zusammen. Ein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Gruppen konnte jedoch nicht nachgewiesen werden. Die nachfolgende Tabelle verdeutlicht dies noch einmal.

Gruppe	Charakterisierung	Anzahl	Median	Minimum	Maximum
1	H. pylori-positiv	26	0,44	0	1,6
2	H. pylori-negativ mit Hinweis auf Magenerkrankung	18	0,66	0,12	1,38
3	H. pylori-negativ ohne Hinweis auf Magenerkrankung	13	0,39	0,05	0,81

Tabelle 18: CD11a positive Zellen pro mm² mit Median, Minimum und Maximum

Das Streudiagramm (Abbildung 9) verdeutlicht die Verteilung der einzelnen Werte noch einmal, und gibt die exakten Molekülzahlen in mm² an. Einige der Werte wurden hier wieder zusammengefasst in einem Kästchen wiedergegeben.

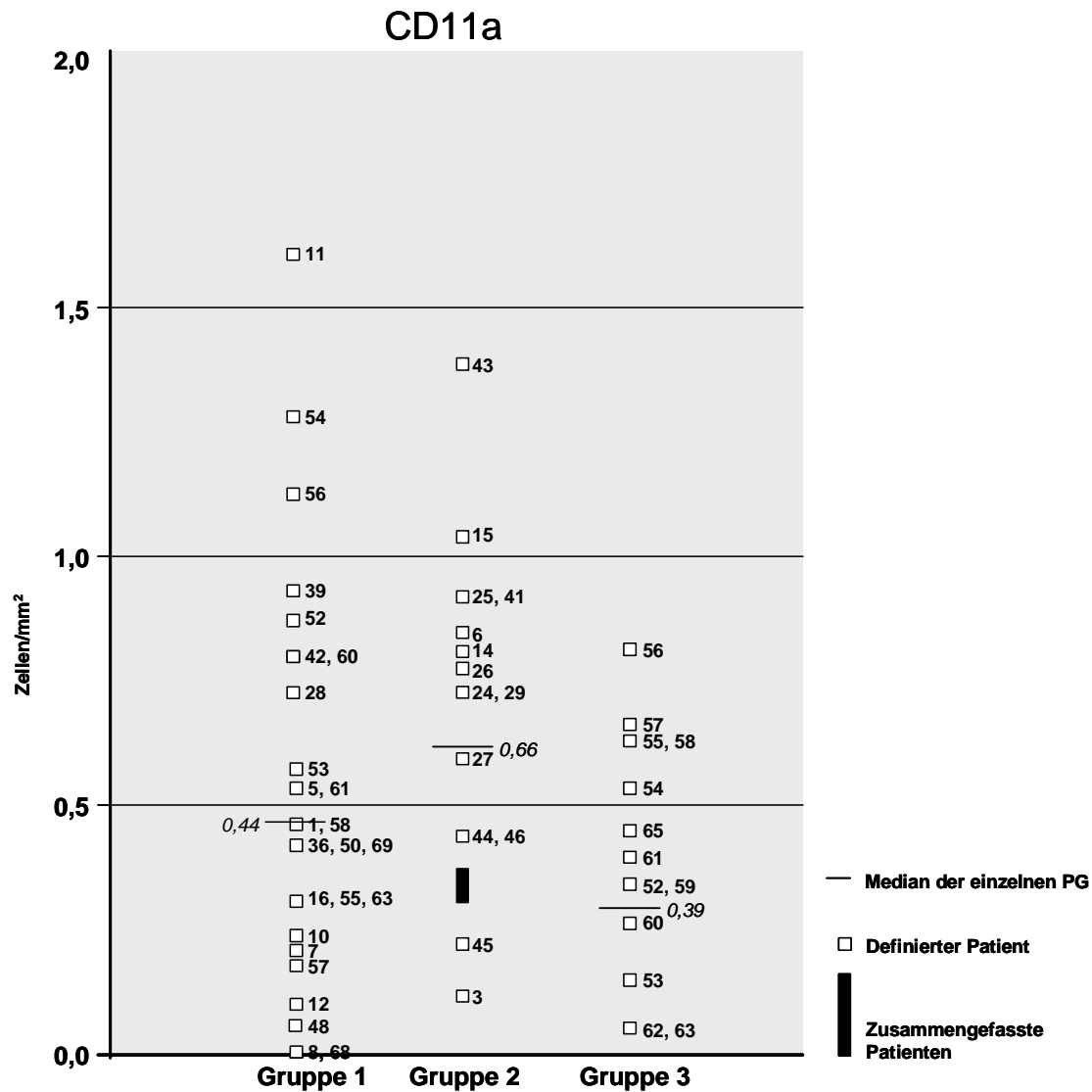


Abbildung 9: Streudiagramm der CD11a-Expression der 3 Gruppen

4.5.1.7 CD62L-positive Zellen

Die Färbung dieses Moleküls gestaltete sich schwierig. Sie gelang nur bei 32 Kindern, vor allem aufgrund schlechter Qualität der Schnitte, was nicht einmal 50% der Probanden bedeutet. Von diesen 32 Kindern zeigten nur 23 eine Anfärbung des Moleküls in der Lamina propria des Magens. Zwei Kinder der Gruppe 1 zeigten keine CD62L-positiven Moleküle in ihrer Lamina propria. Bei den Kindern der Gruppe 2 waren es vier und in Gruppe 3 drei Kinder. Der Median der Gruppen 1 und 3 betrug jeweils 0,13, sie unterschieden sich somit nicht. Der Median der Gruppe 2 mit Hinweis auf Magenerkrankung lag mit einer Zahl von

0,06 deutlich darunter. Aus diesen Zahlen wird deutlich, dass auch bei diesem Molekül kein signifikantes Ergebnis erreicht werden konnte.

Gruppe	Charakterisierung	Anzahl	Median	Minimum	Maximum
1	H. <i>pylori</i> -positiv	12	0,13	0	0,6
2	H. <i>pylori</i> -negativ mit Hinweis auf Magenerkrankung	14	0,06	0	0,29
3	H. <i>pylori</i> -negativ ohne Hinweis auf Magenerkrankung	7	0,13	0	0,63

Tabelle 19: Verteilung der CD62L-Expression mit Median, Minimum und Maximum

Im nachfolgenden Streudiagramm werden die einzelnen Werte noch einmal graphisch dargestellt, wobei wiederum einige Werte in einem gefüllten Kästchen zusammengefasst wurden.. Hierbei fallen zwei Kinder mit hohen Werten auf. Eines davon gehört der Gruppe 1 (28), das andere der Gruppe 3 (61) an. Beim Vergleich mit den anderen Werten dieser Kinder fallen keine Besonderheiten auf, so dass diese Werte als Ausreißer gewertet werden.

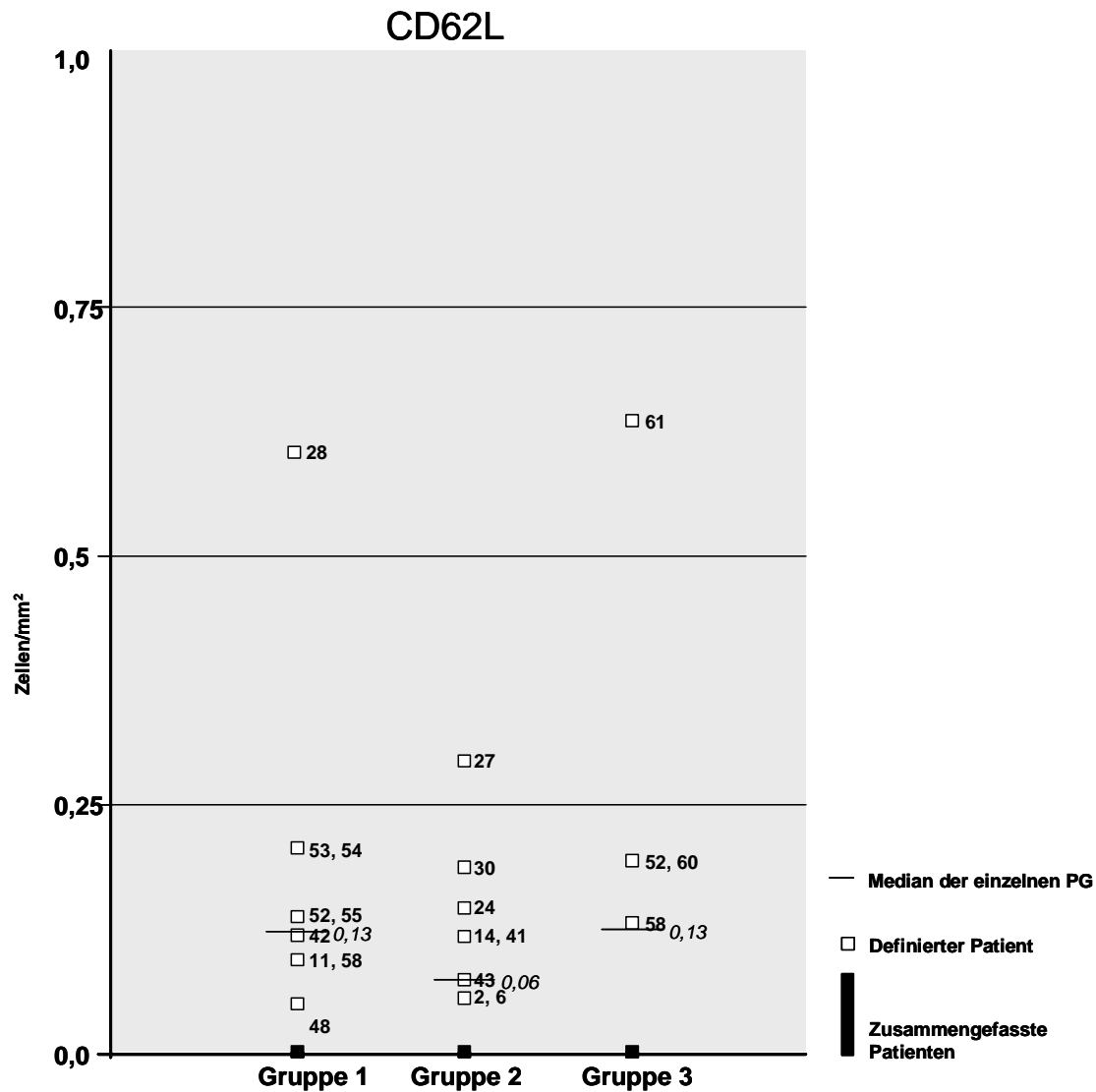


Abbildung 10: Streudiagramm der CD62L-Expression der 3 Gruppen

4.6 Korrelationen der histologischen und immunhistochemischen Ergebnisse

4.6.1 Zusammenhänge der immunhistochemischen Ergebnisse untereinander

4.6.1.1 Korrelationen innerhalb der Gruppe 1

In der Gruppe der Integrine korrelierten CD11a und CD18 untereinander. Des Weiteren korrelierten alle drei, zu den Integrinen gehörende Moleküle, mit CD106, das zur Gruppe der Ig-Superfamilie zählt.

Die zur Ig-Superfamilie gehörenden Moleküle CD54 und CD106 korrelierten in ihrem Ergebnis nicht miteinander. CD106 zusätzlich mit dem Selektin CD62L und CD54 mit CD11a.

Die zur Gruppe der Selektine gehörenden Moleküle CD62L und CD162 korrelierten nicht miteinander. CD62L korrelierte jedoch mit CD106 und CD11b und CD162 korrelierte mit CD11a.

Alle Korrelationen innerhalb der Gruppe 1 mit ihrem jeweiligen Signifikanzniveau zeigt die folgende Tabelle.

	CD54	CD106	CD162	CD18
CD11a	r = 0,521 p<0,013	r = 0,476 p<0,019	r = 0,605 p<0,002	r = 0,506 p<0,014

Korrelation mit CD11a in der Lamina propria

	CD106	CD62L
CD11b	r = 0,632 p<0,001	r = 0,641 p<0,025

Korrelation mit CD11b in der Lamina propria

	CD106	CD11a
CD18	r = 0,441 p<0,04	r = 0,506 p<0,014

Korrelation mit CD18 in der Lamina propria

	CD11a
CD54	r = 0,521 p<0,013

Korrelation mit CD54 in der Lamina propria

	CD106	CD11b
CD62L	r = 0,869 p<0,000	r = 0,641 p<0,025

Korrelation mit CD62L in der Lamina propria

	CD11a
CD162	r = 0,605 p<0,002

Korrelation mit CD162 in der Lamina propria

Tabelle 20. 1-7: Korrelationen der immunhistochemischen Ergebnisse untereinander für die Gruppe 1 mit Korrelationskoeffizient r und Signifikanzniveau p

4.6.1.2 Korrelationen innerhalb der Gruppe 2

In der Gruppe 2 der *H. pylori*-negativen Kinder mit Hinweis auf Magenerkrankung zeigte sich nur eine einzig Korrelation. Diese bestand zwischen dem Integrin CD11b und dem zur Ig-Familie gehörigen CD54. Die übrigen Moleküle korrelierten in ihrem Anfärbeverhalten nicht miteinander.

	CD11b
CD54	r = -0,53 p<0,016

Korrelation mit CD54 in der Lamina propria

	CD54
CD11b	r = -0,53 p<0,016

Korrelation mit CD11b in der Lamina propria

Tabelle 21.1-2: Korrelationen der immunhistochemischen Ergebnisse untereinander für die Gruppe 2 mit Korrelationskoeffizient r und Signifikanzniveau p

4.6.1.3 Korrelationen innerhalb der Gruppe 3

In der Gruppe 3 der Kinder ohne Nachweis auf Magenerkrankung gab es zwei Korrelationen verschiedener Molekülklassen. Das zur Ig-Superfamilie gehörige CD54 korrelierte sowohl mit dem Selektin CD162 als auch mit dem Integrin CD11b. Weitere Korrelationen innerhalb dieser Patientengruppe konnten nicht aufgewiesen werden.

Die folgende Tabelle stellt den Sachverhalt noch einmal dar.

	CD162	CD11b
CD54	r = 0,618 p<0,043	r = 0,873 p<0,000

Korrelation mit CD54 in der Lamina propria

	CD54
CD11b	r = 0,873 p<0,000

Korrelation mit CD11b in der Lamina propria

	CD54
CD162	r = 0,618 p<0,043

Korrelation mit CD162 in der Lamina propria

Tabelle 22.1-3: Korrelationen der immunhistochemischen Ergebnisse untereinander für die Gruppe 3 mit Korrelationskoeffizient r und Signifikanzniveau p

5 Diskussion

5.1 Patientenkollektiv

5.1.1 Bedeutung der Patienteneinteilung in drei Gruppen

Die **Gruppe 1** bestand aus Kindern, die in ihrer Diagnostik mindestens drei Mal positiv auf *H. pylori* getestet wurden. Eine kulturelle Anzucht des Keims glückte nicht in allen Fällen, da dieser Test zwar eine Spezifität von 100 % aufweist, aber seine Sensitivität um einiges niedriger liegt. Rüssmann et al. erreichten in ihrer Studie nur eine Sensitivität von 82,7 %, obwohl die Biopsien nur eine kurze Transportzeit ins Labor hatten (148). Er hält die Stabilität von *H. pylori* in einer Biopsie während des Transportes für den limitierenden Faktor (148). In einer anderen Studie wurde sogar nur eine Sensitivität von 42 % der kulturellen Anzucht erreicht (125). In unserer Studie stellten sich alle Kinder die keine Infektion mit *H. pylori* hatten, negativ im Atemtest dar.

Viele Zweiterkrankungen stellten ein Ausschlusskriterium für diese Gruppe dar, da bestimmte Entzündungen mit Magenbeteiligung, wie chronisch entzündliche Darmerkrankungen oder Zöliakie eine spezifische Immunreaktion nach sich ziehen, die Ergebnisse verfälschen könnten. Drei der Kinder hatten jedoch einen Nebebefund, bei welchem keine Veränderungen der Magenmukosa erwartet wurden und sie somit in die Studie aufgenommen werden konnten. Eins der Kinder hatte eine kleine Hiatushernie (Pat. 8) ein anderes litt an Laktose-Intoleranz (Pat. 22) und das dritte zeigte klinisch unauffällige Gallensteine (Pat. 24).

Gruppe 2 setzte sich aus Kindern zusammen, die nachweislich nicht mit *H. pylori* infiziert waren, da mindestens drei der Nachweismethoden ein negatives Ergebnis erbracht hatten. Diese Kinder litten an einer Grundkrankheit, bei welcher eine Magenbeteiligung nachgewiesen war, oder zumindest eine Zellinfiltration in die Magenmukosa nicht

ausgeschlossen werden konnte. Eine Krankheit dieser Gruppe stellte die gastroösophageale Refluxkrankheit dar. Hier zeigen sich Veränderungen in der Magenmukosa, die denen einer chronischen Gastritis gleichen (15) und bei welcher auch Motilitätsstörungen des Magens auftreten können (67). Auch Erkrankungen, die normalerweise dem Darm zugeordnet werden, ziehen oft auch eine Beteiligung der Magenmukosa mit sich. Dies tritt zum Beispiel häufig bei Erkrankungen mit Zöliakie auf, wo meist das Bild einer lymphozytenreichen Gastritis dominiert (36; 42). Auch chronische entzündliche Darmerkrankungen, wie M. Crohn (138) oder eine Colitis ulcerosa können Teile der Magenschleimhaut betreffen. Des Weiteren wurden in die Gruppe Kinder mit Nahrungsmittelallergien eingeschlossen, da diese Form der Allergie oft die Immunantwort des Magens beeinflusst (16; 138; 141). Alle Kinder, die in der Vergangenheit eine erfolgreiche Eradikation des Keims *H. pylori* hinter sich gebracht hatten, wurden ebenfalls in diese Gruppe eingeschlossen, da sich die Magenmukosa nach einer *H. pylori* Gastritis nur sehr langsam regeneriert und es oft drei bis vier Jahre dauert, bis sie wieder eine normale Gestalt annimmt (166). Kinder, bei denen sich endoskopisch eine veränderte Corpusschleimhaut, im Sinne einer Rötung, Streifung oder Nodularität zeigte, wurden auch Teilnehmer der Gruppe 2, da derartige Veränderungen immer auf ein entzündliches Geschehen schließen lassen. Da Medikamente, wie Protonenpumpenhemmer (136), Immunsuppressiva und Antibiotika (14) ebenfalls Einfluss auf das Immunsystem des Magens nehmen (39), wurden zu guter Letzt die Kinder in Gruppe 2 integriert, die in den letzten vier Wochen vor der Biopsie solche Medikamente eingenommen hatten.

Gruppe 3 bestand aus *H. pylori*-negativ getesteten Kindern, die keine Hinweise auf eine mögliche Magenerkrankung zeigten. Da aber nur Kinder mit gastrointestinalen Beschwerden endoskopiert wurden, konnte auch bei ihnen eine Magenbeteiligung nicht mit 100-prozentiger Sicherheit ausgeschlossen werden.

Eine gezielte Aufschlüsselung der Kinder ohne *H. pylori*-Infektion wurde deshalb

unternommen, da man auf diese Weise die *H. pylori*-negativen Patienten noch besser charakterisieren konnte. Gruppe 3 repräsentiert somit die Gruppe der gesunden und Gruppe 2 die der „Disease Controll Group“. Vergleichbare Studien gibt es kaum, da die meisten Studien nur eine Aufteilung in *H. pylori*-Erkrankte und gesunde Personen erstellen. Bei uns stellt, durch die Einteilung in drei Gruppen, die Histologie keine unabhängige Variable mehr dar.

Zur Interpretation der Arbeit, ist es sehr wichtig, zu berücksichtigen, dass unsere Gruppe 2 eine sehr heterogene Einheit darstellt, da auch die Möglichkeit besteht, dass gesunde Kinder in dieser Gruppe repräsentiert werden. Retrospektiv lässt sich jedoch sagen, dass unsere klinische Einschätzung der Kinder so gut war, dass sich die Patienteneinteilung mit der Sydney-Klassifikation, die heute den Goldstandard der Gastritiden-Einteilung darstellt, gut vereinbaren lässt. Dies hebt die Schlüssigkeit unserer Patienteneinteilung deutlich hervor.

5.1.2 Bedeutung der Kollektivgrösse

Die Fallzahl von 70 Kindern stellt bei einer klinischen Studie eine geringe Anzahl an Patienten dar. Deshalb darf man hier keine Normalverteilung der Ergebnisse erwarten. Diese durften deshalb auch nicht mit dem Mittelwert angegeben werden, es musste stattdessen mit dem Median gerechnet werden. Außerdem durften nur nicht-parametrische Testverfahren in die Auswertung der Ergebnisse einbezogen werden.

Für eine Studie, die immunhistochemische Methoden verwendet, stellt eine Menge von 70 Patienten jedoch eine sehr relativ hohe Fallzahl dar, wie man im Vergleich mit anderen Studien sehen kann. In vergleichbaren Studien wurden 64 Patienten (69), 31 Patienten (149) und in einer dritten Studie 25 Patienten (77) untersucht.

Alle diese Studien wurden bei erwachsenen Patienten durchgeführt. Die insgesamt etwas niedrige Fallzahl lag deshalb am erheblichen zeitlichen Aufwand der quantitativen Auswertung der einzelnen Adhäsionsmoleküle.

5.1.3 Bedeutung des Lebensalters

Der Altersmedian der Mit *H. pylori* infizierten Kinder lag signifikant höher als der, der beiden anderen Gruppen. Infektionen mit diesem Keim sind in Deutschland im Säuglings- und Kleinkindalter nicht sehr häufig anzutreffen. Die Prävalenz bei den fünf- bis achtjährigen beträgt hier etwa 5 % (145) und steigt zu einer Infektionsrate von 10 bis 20 % bei den 10 bis 20-jährigen (145). Neuere Studien geben die Infektionsrate von westeuropäischen Jugendlichen bei 7,1 % (66), bzw. 10,1 % (63) an und finden in den verschiedenen Altersgruppen zwar einen Anstieg der Infektionsrate, aber keinen signifikanten Unterschied der Prävalenz mit zunehmendem Alter (66). Dies ist aber nicht weiter verwunderlich, da Studien belegen, dass die Infektion meist im Kindesalter und oft schon vor dem fünften Lebensjahr erworben wird (85; 115; 145) aber die Infektion symptomlos bleibt. Deswegen wird die Indikation zur Gastroskopie erst bei Komplikationen der Erkrankung mit *H. pylori*, wie gastroduodenalen Ulcera und meist erst nach dem zehnten Lebensjahr gestellt (147). Andere Magen-Darm-Erkrankungen zeigen schon viel früher Symptome, wie zum Beispiel die Zöliakie (21) oder M. Crohn (135), die schon in den ersten Lebensjahren zu Beschwerden führen. Des Weiteren gibt es *H. pylori*-nicht-invasive Diagnostikmöglichkeiten, die bei anderen Erkrankungen wie z. B. GÖRK nicht gegeben sind, hier wird die Indikation zur endoskopischen Untersuchung wesentlich früher gestellt. Ein weiteres Kriterium zur früheren endoskopischen Untersuchung stellt die Ausdrucksmöglichkeit von Beschwerden durch die Sprache aus. Ein Kleinkind, welches noch nicht gelernt hat richtig zu sprechen und an rezidivierendem Erbrechen oder Nahrungsverweigerung leidet, wird, zur Abklärung der Symptomatik, viel früher endoskopisch untersucht werden. Deshalb ist der signifikant höhere Altersmedian der Gruppe 1 kaum verwunderlich. Eine Altersabhängigkeit in der Expremierung eines bestimmten Adhäsionsmoleküls konnte in der vorliegenden Studie nicht gezeigt werden.

5.1.4 Einfluss der Nationalität

Die Ergebnisse unserer Studie zeigten, dass nur 25 % der *H. pylori*-erkrankten Kinder von deutscher Nationalität waren, obwohl sie mit 70 % die Mehrheit der Studienteilnehmer stellten. Es gilt als gesichert, dass ein signifikanter Unterschied in der Infektion zwischen entwickelten und weniger entwickelten Ländern existiert (167). Als größter Risikofaktor für eine Infektion gilt demnach der niedrige sozioökonomische Status einer Bevölkerungsgruppe (85), da in unterprivilegierten Schichten oft enge Wohnräume, schlechte sanitäre Verhältnisse und Mangel an frischem Trinkwasser vorherrschen (167). Das erklärt, warum auch in westeuropäischen Ländern die Prävalenz einer *H. pylori*-Infektion bei 30-40 % der Kinder in sozial schwächeren Familien liegt (147). Den gleichen Prävalenzwert erreichen Kinder in Ost- und Südosteuropa (146). Dieser Wert steigt auf 80-100 % der erkrankten Kinder in Entwicklungsländern an (146). Einen weiteren Risikofaktor stellt der Infektionsstatus in der Familie dar, da die Infektion wohl meist oral-oral übertragen wird (85). In der Gruppe 1 fanden sich fünf Geschwister einer afghanischen Familie, die alle mit *H. pylori* erkrankt waren. Hier zeigte sich, dass sowohl die Eltern als auch ein weiteres Geschwisterkind ebenso an diesem Keim erkrankt waren, was die These einer Infektion innerhalb der Familie stützt.

5.1.5 Eradikationstherapien in der Vergangenheit

Eine Anti-*H. pylori*-Therapie war in der Vergangenheit bei 12 der Kinder unserer Studie durchgeführt worden. Sieben Kinder profitierten von dieser Therapie und zeigten sich zum Zeitpunkt der Studie negativ auf eine Infektion mit dem Keim. Fünf der behandelten Kinder waren jedoch weiterhin *H. pylori*-positiv. Dabei handelte es sich mit großer Wahrscheinlichkeit um keine Neuinfektionen, sondern um ein Fehlschlagen der Therapie. In Studien wurde belegt, dass ca. 10 % der behandelten Personen „Non-Responders“ darstellen, die nach einer Therapie *H. pylori* infiziert bleiben (79). Das Scheitern der Therapie kann viele

Ursachen haben unter anderen ist dabei immer an eine mangelnde Compliance des Patienten oder eine Resistenz des Erregers auf die Therapie zu bedenken (79).

Bei einer erfolgreichen Eradikation der Keims zeigt sich schon bald eine histologische Verbesserung der Entzündungszeichen in der Magenmukosa. Eine Infiltration von neutrophilen Granulozyten verschwindet bereits ein bis zwei Monate nach erfolgreicher Eliminierung des Keims (166). Die chronische Komponente, die durch T-Lymphozyten, B-Lymphozyten, Plasmazellen und Monozyten verursacht wird (39), klingt erst später ab, sollten jedoch auch nach ca. ein bis zwei Jahren verschwunden sein (166).

Das zeigte sich auch bei den Kindern unserer Studie, deren erfolgreiche Keimeliminierung mindestens sechs Monate zurücklag. Die Zahl des Zellinfiltrates war deutlich, im Vergleich zu den erkrankten Kindern, zurückgegangen. Bei allen 5 genesenen Patienten lag ein Grad 1 der Chronizität vor, im Vergleich zu der erkrankten Patientengruppe, die einen Median von 2,16 der Chronizität zeigten. Die übrigen Parameter waren bei den geheilten Kindern jeweils auf den Grad 0 gesunken. Dies zeigt, dass in der Mukosa nach erfolgreicher Therapie eine vollständige Wiederherstellung des gesunden Zustandes oder zumindest eine starke Regression des Entzündungszustandes erreicht werden kann, was auch zahlreiche Studien belegen (125; 98).

5.2 Endoskopisch erhobene Befunde

Makroskopisch wurden während der Endoskopie verschieden Befunde erhoben. Erythema, Exsudate, Erosionen und Nodularität konnten meist mit einer Infektion mit *H. pylori* in Verbindung gebracht werden (126). Nodularität im Antrum ist vor allem bei Kindern, ein Marker für die Infektion mit *H. pylori* (9; 103; 107, 169), kann aber auch in Magenmukosa Erwachsener *H. pylori*-Patienten gefunden werden (169). Bei Kindern ist diese Nodularität oft mit höchster Entzündungsaktivität verbunden (9; 107). Sie zeichnet sich durch eine sehr hohe Spezifität, aber eine meist geringere Sensitivität aus (103; 107; 126). Die Spezifität lag in den

verschieden Studien bei 100 % (105) 98 % (9) und 83 % (103). In unserer Studie lag die Spezifität mit 97,4 % damit genau im Bereich der anderen Studien. die Sensitivität lag mit 40,5 % (107) und 39, 8 % deutlich niedriger. In unserer Studie wurde hier ein Wert von 96, 7 % erreicht. Dieser liegt damit deutlich höher, als in allen anderen Studien, was aber mit unserer relativ geringen Fallzahl zusammenhängen könnte, denn diese lag bei den Vergleichsstudien mit 174 bis 305 Patienten deutlich höher.

Ein Kind der Gruppe 2 zeigte ein falsch positives Ergebnis in Bezug auf die antrale Nodularität. Dieses Kind war in der Vergangenheit erfolgreich anti-*H. pylori* behandelt worden und in einer weiteren später erfolgten Kontrollbiopsie zeigte sich hier ein Duodenalulkus und eine eosinophile Infiltration trotz erneutem negativen *H. pylori* Status. So kann eine solche Nodularität auch mit einer außerordentlich schweren Gastritis in Verbindung gebracht werden (107), was in der vorliegenden Studie nicht untersucht werden konnte.

Ein einziges Kind der mit *H. pylori*-erkrankten Gruppe 1 zeigte keine Nodularität im Antrum. Dieses Ergebnis ist vereinbar mit der oben erörterten Sensitivität deren Auftreten. Des Weiteren kann bei einer Infektion mit *H. pylori* die Magenmukosa durchaus makroskopisch weiterhin unauffällig erscheinen (6; 60).

Im Gegensatz dazu fielen in der Gastroskopie vier Kinder auf, die nicht an *H. pylori* erkrankt waren und dennoch eine makroskopisch sichtbare Rötung der Magenmukosa aufwiesen. Eines dieser Kinder zeigte dazu auch ein histologisches Korrelat mit einer aktiven chronischen Entzündung. Die Diagnose M. Crohn des Kindes ist gut vereinbar mit diesen mikroskopischen- und makroskopischen Veränderungen, da M. Crohn auch eine Veränderung der Magenmukosa veranlassen kann. Bei den anderen drei Kindern fand sich zum makroskopischen kein vergleichbares mikroskopisches Bild. Diese drei Kinder wurden dennoch in Gruppe 2 eingeteilt, da sie an Bauchschmerzen und in einem Falle an einer lymphozytären Gastritis litten.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass sich hinter einer makroskopisch unauffällig erscheinenden Magenmukosa ein entzündliches Infiltrat verbergen kann (60) und dass, wie in unserem Falle, eine makroskopische Veränderung nicht immer mit der erwarteten mikroskopischen korreliert. Deswegen sollte bei jeder endoskopischen Untersuchung auch die Entnahme einer Biopsie zur histologischen Aufarbeitung erfolgen.

5.3 Histologische Befunde nach der Sydney-Klassifikation

Die histologischen Ergebnisse wurden nach der modifizierten Form der Sydneyklassifikation von 1996 beurteilt (39). Die Einführung dieses Systems ermöglichte es, das erste Mal histologische Parameter einzustufen, topographische Verteilungen zu differenzieren und die Ätiologie der Gastritis miteinfließen zu lassen. Von pathogenetischer Wichtigkeit ist natürlich die Differenzierung zwischen Gastritiden mit und ohne *H. pylori*-Infektion (164). Die morphologischen Variablen der histologischen Beurteilung (*H. pylori*-Dichte, Chronizität der Entzündung, Entzündungsaktivität, Atrophie und Metaplasie) werden hier in einer standardisierten analogen Skala von 0 = nicht vorhanden bis drei = sehr ausgeprägt umgewandelt (Chen XY. Et al.). Obwohl eine Interobserverdifferenz in der Betrachtung nicht ausgeschlossen werden kann (7; 39) stellt das System der Sydney-Klassifikation die einzige anerkannte Methode zur Charakterisierung der verschiedenen Arten einer Gastritis dar. Die Anwendung ist auch für Studien mit Kindern verifiziert (26).

Um in unserer Studie die subjektive Komponente klein zu erhalten, wurde diese Bewertung nach der Sydney-Klassifikation von einer Pathologin in Form einer Blindstudie ausgeführt.

5.3.1 Entzündungsaktivität

Sie ist nach der Sydney-Klassifikation durch Anwesenheit von segmentkernigen neutrophilen Granulozyten in der Magenmukosa definiert. Wie schon in der Einleitung erwähnt, verursachen diese, wohl durch Freisetzung von Sauerstoffradikalen und Proteasen, eine

Gewebsschädigung.

Granulozyten sind ein sensibler Marker für die Infektion mit *H. pylori*, da sie bei einer Infektion fast immer vorliegen (39) und schon bald nach der Genesung nicht mehr in der Magenmukosa zu finden sind (166), eine gesunde Magenschleimhaut weist keine Neutrophilen auf (6).

Von den 31 Kindern der Gruppe 1 wiesen jeweils 14 Kinder eine Entzündungsaktivität vom Grad 1 und 2 im Antrum auf. Nur ein Kind zeigte eine Grad 3-Infiltration mit neutrophilen Granulozyten.

Zwei Kinder zeigten eine unauffällige Mukosa des Antrums, was durchaus auch mit der Diagnose *H. pylori* vereinbar sein kann (60). Eine vergleichbare Studie von Ashorn kam zu vergleichbaren Ergebnissen. Hier zeigten zwei der 12 *H. pylori*-infizierten Kinder eine milde Gastritis, sechs eine mäßige (Grad 2) und drei eine, dem Grad 3 entsprechende Ausprägung der Granulozyteninfiltration. Auch hier zeigte ein Kind eine histologisch unauffällige Magenmukosa (6). Die Kinder der Gruppe 2 wiesen zu 91,6 % eine unauffällige Schleimhaut auf. Nur bei zwei Kindern konnte eine Infiltration mit Granulozyten nachgewiesen werden. Ein Kind zeigte eine Aktivität vom Grad 1. Dieses Kind litt an einer chronischen Entzündung mit M. Crohn. Das andere Kind zeigte eine mässige Entzündungsaktivität. Dieses Kind war an einer Infektion mit *H. heilmanii* erkrankt, wo sich eine vergleichbare Entzündungscharakteristik zum Bakterium *H. pylori* zeigt (117). Die Kinder der Gruppe 3 stellten sich gänzlich unauffällig dar. So bestätigten sich in unserer Studie die Vorgaben der Sydney-Klassifikation. Eine interessante Fragestellung ist, ob die Entzündungsaktivität bei Infektion mit *H. pylori* zwischen erkrankten Erwachsenen und Kindern unterschiedlich ausfällt. Dazu existieren in verschiedenen Studien unterschiedliche Meinungen. In einer älteren Studie beschreibt Meining, dass eine Gruppe infizierter Kinder eine höhere Entzündungsaktivität aufwies, als eine vergleichbare Erwachsenenengruppe (116). Uhlig HH.

Fand in einer Studie des letzten Jahres keinen signifikanten Unterschied der Entzündungsaktivität zwischen *H. pylori*-positiven Kindern und Erwachsenen (169) und in anderen Studien (167; 177) zeigten die Kinder eine geringere Entzündungsaktivität.

5.3.2 Entzündungschronizität

Eine Definition zur Entzündungschronizität erscheint problematisch. Sie ist charakterisiert durch Auftreten von mononukleärem Leukozyteninfiltrat. Da auch in der Mukosa von Gesunden stets einige dieser Leukozyten auftreten gestaltet sich die Gradwanderung, wann eine noch normale Antrum mukosa vorliegt und ab welcher Menge von mononukleären Zellen man von chronischer Entzündung spricht, als schwierig (39). So wurde die normale Zahl an mononukleären Granulozyten in der Lamina propria auf maximal zwei bis fünf Lymphozyten, Plasmazellen, und Makrophagen bei einer 40-fachen Vergrößerung in einem Gesichtsfeld festgelegt (39); darüber hinaus spricht man von einer chronischen Entzündung. Kommen bei Verwendung des gleichen Objektivs auf 100 Epithelzellen mehr als fünf Leukozyten so liegt ebenfalls eine chronische Entzündung vor. Vergleicht man jetzt die Normalwerte von Erwachsenen nach der Sydney-Klassifikation umgerechnet in Quadratmillimeter mit den Normalwerten von mononukleären Leukozyten, die Ashorn in einer Arbeit für Kinder festgelegt hat, so steht der Erwachsenenwert von 145 chronischen Entzündungszellen / mm² dem von 2016 / mm² bei Kindern gegenüber (6). Da in verschiedenen Studien jedoch ein geringeres chronisches Zellinfiltrat bei Kindern mit Gastritiden im Vergleich zu Erwachsenen gefunden wurde (176), wird es ersichtlich, dass auch bei gesunden Kindern ein höheres Maß an mononukleären Zellen in der Mukosa des Antrums auftreten kann. Dies lässt sich auch gut mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit vereinbaren. 65 der 70 Kinder zeigten zumindest ein mildes chronisches Entzündungsgeschehen. Dabei zeigt sich, dass im Gegensatz zur Gruppe 2 und 3, wo fünf Kinder keine chronische Infiltration zeigten, kein Kind der Gruppe 1 eine Chronizität des Grades 0 aufwies. Die Kinder der Gruppen 2 und 3 zeigten keine starke

Chronizität vom Grad 3, *H. pylori*-erkrankte Kinder hingegen sogar in sechs Fällen. Somit kann eine signifikant stärkere Infiltration mit mononukleären Zellen bei *H. pylori*-Infektion nachgewiesen werden. Dieses Ergebnis unserer Studie stimmt auch mit dem anderer überein (6; 176).

Der direkte Vergleich von Ergebnissen der immunhistochemischen Färbung und denen der Sydney-Klassifikation ist leider nicht möglich, da die Interobservervariabilität nicht überprüft wurde. Ein Bezug der Ergebnisse untereinander darf dennoch erfolgen. Es ist demnach zu erwarten, dass bei Schwererem chronischem Entzündungsaspekt auch die Zahl der mononukleären Zellinfiltrate der Mukosa ansteigen. Dieser Zusammenhang verifizierte sich für T-Lymphozyten und Monozyten der Gruppen 1 und 2. Bei diesen beiden Gruppen korrelierten zusätzlich die Entzündungschronizität und -aktivität untereinander. In Gruppe 1 ist das, durch das der Sydney-Klassifikation nach simultane Vorkommen von Neutrophilen und Mononukleären in Form einer chronisch aktiven Gastritis zu erklären (39).

Der Gruppeninteilung nach sollte die Chronizität der Entzündung von Gruppe 1 bis 3 stetig abnehmen, da in der letzteren ja Kinder ohne Magenbeteiligung zusammengefasst wurden. Das bestätigt sich dann auch, da es eine hochsignifikante negative Korrelation zwischen Gruppenzahl und Chronizitätsgrad besteht. ($r = -0,73$; $p \leq 0,001$). Die Auswahlkriterien der einzelnen Gruppen wurden also treffend gestellt.

5.3.3 *H. pylori* -Dichte

Das Vorhandensein von *H. pylori* ist das wichtigste Einteilungskriterium der Sydney-Klassifikation. Variationen in der *H. pylori*-Dichte könnten eine epidemiologische Wichtigkeit im Bezug auf Krankheitsausprägung und -entwicklung darstellen (39). In Magenkarzinom-Hochrisikoländern wie Kolumbien zeigt sich schon im Kindesalter eine dichtere *H. pylori*-Kolonisation als in Teilen der Welt, wo maligne Tumoren des Magens seltener sind (11).

Zusätzlich liegt die *H. pylori*-Dichte bei Kindern höher als bei Erwachsenen Erkrankten (169; 177) und es scheint einen direkten Zusammenhang zwischen histologischem Grad der chronischen Entzündung und dem der *H. pylori*-Dichte zu geben (25). Dieser letzte Punkt kann in unserer Arbeit nicht bestätigt werden.

Infolge der Einteilung lag nur bei Kindern der Gruppe 1 eine Besiedlung mit *H. pylori* vor. Dabei zeigten 12,9 % der Kinder eine Kolonisation vom Grad 1, 38,7% vom Grad 2 und 48,4 % vom Grad 3. Diese Ergebnisse decken sich mit jenen von Whitney et al (176). Hier zeigten 52 % der erkrankten Kinder eine *H. pylori*-Kolonisation des Grades 3, aber nur 35 % der Erwachsenen. Als mögliche Erklärung der höheren Besiedlung mit Erregern in Kindern vermutet die genannte Studie, dass Kinder eine weniger starke Entzündungsantwort als Erwachsene liefern und so das Wachstum der Erreger weniger eingedämmt werden kann.

5.3.4 Atrophie der Magenmukosa

Die Atrophie von Magenmukosa ist definiert als Verlust von Drüsenkörpern. Dies führt mit der Zeit zur Verdünnung der gesamten Schleimhaut und hat intestinale Metaplasie zur Folge.

Eine Drüsenatrophie ist leicht zu erkennen, wenn sie stark ausgeprägt ist. Schwächer Formen sind jedoch schwierig zu differenzieren (24). In verschiedensten Studien wird dargelegt, dass in der Bestimmung des Atrophiegrades die größte Interobserver-Unstimmigkeit im Bezug auf das Sydney-System besteht (24; 166). In unserer Arbeit zeigten insgesamt neun Kinder eine Atrophie vom Grad 1, was 12,8 % des Patientenkollektives entspricht. Unter diesen neun Kindern waren jedoch nur vier, bei welchen diese Atrophie aufgrund einer Infektion mit *H. pylori* entstehen konnte (entspricht 12,9 %). Die übrigen fünf Kinder waren den Gruppen 2 und 3 der *H. pylori*-negativen Kindern zugeordnet. Natürlich zeigte sich bei diesem Ergebnis kein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Gruppen. Unsere Ergebnisse decken sich mit denen anderer Studien, wo zum Beispiel 17 % der erkrankten Kinder eine geringgradige und 2 % eine mittelgradige Atrophie aufwiesen. Auch hier waren die übrigen

Kinder unauffällig (177). Über die Entstehungsmechanismen wird kontrovers diskutiert. Eine Studiengruppe stellte die Hypothese auf, dass Atrophie einen frühen Reparationsmechanismus der Magenmukosa darstellt (177), eine andere ist der Meinung, dass die Atrophie durch den Keim selbst, oder durch die Immunantwort entsteht (30). Da fünf Kinder der vorliegenden Arbeit eine leichte Atrophie der Antrummukosa ohne Zeichen einer erhöhten Immunantwort im Magen aufwiesen, erscheint der erste Erklärungsversuch im Bezug auf unsere Studie als denkbar.

5.3.5 Intestinale Metaplasie

Intestinale Metaplasie ist ein weit verbreiteter Aspekt einer chronischen Gastritis, der mit der zeitlichen Dauer dieser Entzündungsreaktion zunimmt und einen Risikofaktor für nachfolgende Dysplasie und Kanzerogenese darstellt (39; 177). Metaplasie könnte einen späten Reparaturmechanismus der Magenschleimhaut darstellen (177), was mit den verschiedensten Studien in Einklang steht, da bei Kindern nie metaplastische Veränderungen in Verbindung mit *H. pylori*-Infektion gefunden wurden (177; 55; 116). Dies trifft auch auf unsere Studie zu, denn keines der 70 Kinder zeigte eine Metaplasie des Antrums. Bei Erwachsenen stellt sie jedoch einen gewöhnlichen Befund dar, was durch mehrere Studien belegt werden kann (169; 177) und wieder mit der oben beschriebenen Hypothese übereinstimmt.

5.4 Qualitative Beurteilung der immunhistochemischen Färbung im Antrum

5.4.1 Vorhandensein von Lymphfollikeln im Antrum

Genta RM, et al. vertraten in ihrer Studie von 1993 die Meinung, dass Lymphfollikel mit Keimzentren charakteristisch für eine chronische Besiedlung mit *H. pylori* seien und eine Kennzeichen der Infektion darstellten. Wurden sie nicht gefunden, so die Meinung der

Autoren, seien die Biopsien nicht ordentlich untersucht worden, da sie in einer Prävalenz von 100 % als Zeichen der Infektion aufträten. Anders herum, stellten sie die These auf, dass, wenn Lymphfollikel ohne Keimnachweis gefunden würden, der Keim durch Fehler in den Untersuchungsmethoden unentdeckt geblieben wäre, oder die Infektion behandelt worden wäre (57). Diese Hypothesen widersprechen den Ergebnissen verschiedener anderer Studien. Chen XY, et al. kam in einer Studie des Jahres 2000 zum Ergebnis, dass 79 % seiner 438 *H. pylori*-infizierten Probanden Lymphfollikel in der histologischen Aufarbeitung aufwiesen, deren Prävalenz und Dichte jedoch stark mit der Aktivität und Chronizität der Entzündung korrelierten, da unter den Patienten mit einer chronisch atrophischen Gastritis nur noch 74, 6 % Lymphfollikel in der Biopsie aufwiesen (23). In einer anderen Studie, die an Kindern durchgeführt wurde, zeigten 52, 2 % der *H. pylori*-Erkrankten Lymphfollikel, sowie 7 % der gesunden Kinder (19). Whitney et al. stellten in einer Studie den Vergleich vom Auftreten von Lymphfollikeln zwischen *H. pylori*-positiven Kindern und Erwachsenen auf. Hier wiesen 61 % der erkrankten Kinder und 58 % der Erwachsenen Follikel im Antrum auf, so dass bei der Ausprägung das Alter wohl keine große Rolle spielt.

In der vorliegenden Studie kamen wir zu ähnlichen Ergebnissen. Insgesamt zeigten sich bei 38 Kindern in der histologischen Untersuchung Lymphfollikel im Antrum. Davon gehörten 28 zur Gruppe 1 der Kinder mit *H. pylori*-Infektion, was somit 90 % der Gruppe 1 entspricht. Bei dreien der *H. pylori*-kranken Kinder konnten keine Lymphfollikel gefunden werden. Die übrigen 10 Kinder die Follikel aufwiesen waren Patienten der Gruppe 2 mit wahrscheinlichen Magenerkrankungen. Drei dieser Kinder zeigten eine plausible Erklärung für diese Entdeckung. Zwei davon waren erfolgreich *H. pylori* eradifiziert und ein Kind litt an einer Infektion mit *H. heilmanii*. Dies passt zur oben genannten Hypothese, dass in erfolgreich behandelten Patienten auch Follikel zu finden sein können. Des Weiteren verhält sich, wie schon an anderer Stelle erwähnt, eine *H. heilmanii*-Infektion genauso, wie eine, die durch

H. pylori ausgelöst wurde. Was bei den übrigen Kindern zu einer Entstehung von derartigem lymphatischen Gewebe geführt hat, ist unklar.

Sicher ist heute, dass *H. pylori* in der Entstehung von MALT-Lymphomen des Magens eine große Rolle spielt (2; 56), da diese vor allem in Gebieten mit hoher *H. pylori*-Prävalenz in Erscheinung treten (2) und mit Hilfe einer Eradikationstherapie eine Regression des Tumors erfolgen kann (50; 92).

5.5 Quantitative Beurteilung der immunhistochemischen Färbung im Antrum

5.5.1 CD106 positive Zellen

CD106 ist einer der Hauptmediatoren der Leukozytenadhäsion und spielt als Co-Stimulator auch eine Rolle in Entzündungsreaktionen verschiedener Organe. Es ist normalerweise auf aktivierten Endothelzellen entzündeter Gewebeoberflächen zu finden und ermöglicht so die Diapedese der Leukozyten durch das Endothel zum Entzündungsherd (70).

Müller et al. wiesen dies in einer Studie nach, in welcher er menschliche Endothelzellen mit Entzündungsreize konfrontierte. Dabei zeigte sich eine gute Korrelation zwischen CD106-Konzentration und Stimulation der Endothelzellen, im Gegensatz zu Endothelzellen ohne Entzündungsreiz (119).

Yoshida et al. untersuchten mittels ELISA, ob ein Wassereextrakt mit *H. pylori* zu einer vermehrten Nachweisbarkeit von gelöstem CD106 in menschlichen Umbilikalvenen führen kann, und stellte dabei ein signifikant positives Ergebnis heraus (181). Byrne et al. erreichten einen Anstieg von 167% der CD106 Konzentration nach Kontakt von Endothelzellen mit *H. pylori* (17).

Diese Studien decken sich mit dem Ergebnis unserer Arbeit. Es zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen CD106-Konzentration der Lamina propria und *H. pylori*-Infektion. Auch zwischen den Gruppen 2 und 3 kann ein Unterschied in der Konzentration der CD106

ausgemacht werden. Dieser fällt jedoch nicht signifikant aus. Der Median beträgt dabei 0,46 für Kinder der Gruppe 2 und 0,24 für Kinder der Gruppe 3, was mit den oben genannten Ergebnissen von Yoshida et al. übereinstimmt, da eine vermehrte CD106-Expression in allen Entzündungsprozessen, wenn auch in unterschiedlichen Ausprägungsgraden zu finden ist.

5.5.2 Positive Zellen der β_2 -Integrine

Die einzelnen Adhäsionsmoleküle der Integrinfamilie werden hier zusammen abgehandelt, da sie in vivo als Zusammenschluss einer gemeinsamen β_2 -Untereinheit und einer dazugehörigen α -Untereinheit zusammensetzt. In dieser Arbeit werden dabei nur CD11a/CD18, auch LFA-1 genannt, und CD11b/CD18, auch Mac-1 genannt, berücksichtigt.

Zur genauen Aufgabe der Integrine gibt es in der Literatur verschiedene Ergebnisse. Higuchi et al. weisen in einer Arbeit nach, dass β_2 -Integrine bei allen Menschen in der Lamina propria nachweisbar sind, bei Kranken aber in weitaus höherer Anzahl (77). Dies schließt er daraus, dass diese Liganden für ICAM-1 darstellen und somit auch mitverantwortlich für das Stadium der festen Leukozytenadhäsion sind. Auch bei Bernstein et al. wird eine basale Expression von β_2 -Integrinen gezeigt, die nach Exposition mit Zytokinen in einen Zustand höchster Aktivität ansteigt.

In einer Studie von Sixt et al. jedoch, wird gezeigt, dass nicht β_2 -Integrine für die Adhäsion und Migration von Molekülen in die interstitielle Matrix notwendig sind, sondern nur β_1 - und β_3 -Integrine (156).

In der vorliegenden Arbeit konnte ein signifikantes Ergebnis von CD11b zwischen Kindern der Gruppe 1 mit nachgewiesener Infektion mit *H. pylori* und Kindern der Gruppen 2 und 3 ohne nachgewiesene Infektion erreicht werden. CD11a und CD18 wiesen diese Signifikanz nicht auf. Die Ergebnisse in Bezug auf CD11b und CD11a decken sich mit verschiedenen Studien. Von Hansen et al. wurden zum einen per Versuch nachgewiesen, dass Proteine von

H. pylori einen proinflammatorischen Effekt auf das Oberflächenmolekül CD11b haben, jedoch nicht auf CD11a. Sie stimulierten zu diesem Zweck neutrophile Granulozyten und führten Messungen nach verschiedenen Zeiträumen durch, wobei sich ein Maximum der Expression nach ca. 45-60 Minuten einstellte. Bei Parkos CA zeigte sich, dass neutrophile Granulozyten bei ihrer transepithelialen Migration CD11b/CD18 abhängig sind, jedoch unabhängig von CD11a/CD18 durch das Epithel gelangen können (133). Diese Ergebnisse decken sich im Großen und Ganzen mit den Ergebnissen unserer Arbeit. Die Frage bleibt, warum unsere Studie ein signifikantes Ergebnis für CD11b zeigt, jedoch nicht für CD18. Jedoch kann man auch bei CD18 eine Tendenz dazu erkennen, dass bei nachgewiesener Entzündung in der Magenmukosa eine höhere Moleküldichte vorliegt, so zeigten Kinder der Gruppe 1 einen Median von 0,71 beim Molekül CD18. Kinder der Gruppe 2 erreichten hier eine Zahl von 0,65, wohingegen bei Kindern der Gruppe 3 dieser Wert nur bei 0,61 liegt. Eine weitere Erklärung dazu zeigt sich in der Arbeit von Bernstein et al. Auch dort zeigten sich in verschiedenen Fällen größere Expressionen für die α -Untereinheiten als für ihre dazugehörige β_2 -Untereinheiten. Seine Lösung dafür ist, dass es wohl Zellen gibt, die entweder verschiedene α -Untereinheiten gleichzeitig mit einer CD18-Untereinheit exprimieren, oder aber, dass auch andere β -Untereinheiten mit α -Ketten assoziieren können. Dies würde auch die Diskrepanz im Ergebnis unserer Studie zwischen CD11b und CD18 erklären.

5.5.3 CD54 positive Zellen

CD54 positive Zellen sind auf den Oberflächen von Endothelzellen in den meisten Körperregionen auch bei gesunden Menschen stets nachweisbar. Das gilt demnach auch für die Lamina propria gesunder Magenmukosa (77). Läuft nun eine Entzündungsreaktion im Magen ab, treten stets proinflammatorische Stimuli, wie Endotoxine oder Ischämie auf und CD54 kann in vermehrter Anzahl nachgewiesen werden (62; 132).

In einer Studie von El Kaissouni et al. wurde überprüft, ob ein Unterschied in der CD54

Konzentration zu finden ist, je nachdem ob es sich um eine Gastritis mit nachgewiesener *H. pylori*-Infektion handelt, oder ob eine andere Ursache zu diesem Krankheitsbild geführt hat (46). Dazu untersuchte er zuvor entnommene Proben der Magenmukosa mit der Immunfluoreszenztechnik. Dabei stellte er bei beiden Gastritisformen eine Erhöhung der CD54 Konzentration in der Mucosa fest, die bei *H. pylori*-positiven Proben jedoch stärker ausgeprägt waren, woraus er eine aktive Beziehung zwischen Bakterium und Endothelzelle schloss. Zu einem vergleichbaren Ergebnis kam die Arbeit von Byrne et al., die nach einer 6-stündigen Exposition von Endothelzellen mit *H. pylori* einen Anstieg der CD54 Konzentration von 100% erhielt.

In der vorliegenden Arbeit konnte solch eine signifikante Unterscheidung der Gruppe 1 mit gesicherter Infektion mit *H. pylori* gegen die Gruppen 2 und 3 leider nicht erzielt werden. Die CD54-Werte lagen in allen Gruppen etwa auf demselben Niveau. Dabei ist jedoch anzumerken, dass die Kinder der Gruppe 2 unter gesicherten Erkrankungen des Gastrointestinaltraktes leiden und deswegen auch eine erhöhte Dichte von CD54 zu erwarten ist. Warum die CD54-Konzentration bei Kindern der Gruppe 3 auch dieses Niveau erreicht ist unklar. Sicher ist nur, dass auch bei ihnen eine gesicherte gastrointestinale Symptomatik, jedoch ohne organisches Korrelat, vorliegt. Bisher gibt es jedoch keine vergleichbaren Studien, die das erklären könnten, da bisher meist erwachsene Probanden untersucht worden sind und Kinder sich in der Art und Intensität der Entzündungsreaktion davon unterscheiden könnten. Des Weiteren wurden die meisten Studien per mRNA-Transkription, ELISA oder ähnlichem untersucht. Vergleichbare Arbeiten mit angefärbten und unter dem Mikroskop ausgezählten Zellen liegen uns nicht vor. Ein gewisses Fehlerpotential könnte hier bei der Auswertung liegen, weil sich die Färbung des Moleküls als problematisch erwies und Farbartefakte nicht vermieden und sich daraus ableitende Auszählungsunsicherheiten nicht sicher vermieden werden konnten.

Andere Studien beschäftigten sich mit der Chronizität und Aktivität von Entzündungsreaktionen und deren Einfluss auf die Expressierung von CD54.

Higuchi et al. sprachen hier CD54 die Schlüsselrolle der pro-inflammatorischen Antwort bei chronischer Infektion mit *H. pylori* zu (77). Sie untersuchten hierzu Patienten mit chronischer Besiedlung von *H. pylori*, und stellten eine bemerkenswerte Abnahme von CD54 nach erfolgreicher Eradikationstherapie fest. Lazaris et al. stellten eine signifikant erhöhte Menge an CD54 bei chronischen Entzündungen der Magenmukosa im Vergleich zur Schleimhaut Gesunder dar (100). Bei einer Versuchsreihe von Higuchi et al. stieg die Expression von CD54 parallel zum histologisch gesichertem Grad der Entzündungsaktivität an.

In der vorliegenden Arbeit kann eine Differenzierung der CD54-Dichte durch Entzündungsaktivität und Chronizität nicht getroffen werden.

5.5.4 CD162 positive Zellen

Das auch PSGL-1 genannte Molekül wird hauptsächlich auf Leukozyten exprimiert und stellt den einzigen biologisch wichtigen Liganden für P-Selektin dar. P-Selektin ist verantwortlich für die Initiierung des Rollens und damit für den Beginn der Entzündungsreaktion innerhalb der ersten Minuten nach proinflammatorischer Stimulation (47; 65; 104; 131).

In einer Arbeit von Rijcken et al. wurde die Rolle von PSGL-1 bei der Leukozytenrekrutierung im Rahmen einer chronischen Kolitis untersucht. Durch Immunoneutralisation von PSGL-1 wurde eine Reduzierung des „Rollings“ von Leukozyten erreicht, was bedeutet, dass PSGL-1 eine wichtige Rolle am Beginn einer Entzündungsreaktion einnimmt (142). Ähnlich waren die Ergebnisse einer Studie von Elizade et al. Hier wurde das Rolling von Leukozyten nach Beigabe von *H. pylori*-Extrakten durch Antikörper gegen P-Selektin vermindert (47). Auch Frenette et al. erreichten durch Beigabe eines Anti-PSGL-1 Antikörper signifikant reduziertes Rolling in Mesenterialgefäßen (53).

Im Stadium der festen Adhäsion, also nach Abschluss des Rollens, werden PSGL-1 und

P-Selektin nicht mehr benötigt, ihre Expression sinkt nach der Leukozytenaktivierung.

In der vorliegenden Arbeit konnte kein signifikantes Ergebnis in der Expression von CD162 erreicht werden. Jedoch ist in der Arbeit keine Differenzierung der verschiedenen Stadien in der Entzündungskaskade möglich. Da 75 Prozent der Kinder der Gruppe 1 mit nachgewiesener *H. pylori*-Infektion Grad 2 der Chronizität erreichten kann davon ausgegangen werden, dass hier das Rollen zur Leukozytenaktivierung weitgehend abgeschlossen wurde und somit die Expression der PSGL-1 Und P-Selektine nicht mehr auf ihrem Höhepunkt sind.

5.5.5 CD62L positive Zellen

Wie schon zuvor erwähnt, ist die Datenlage bei CD62L bei weitem nicht so umfangreich, wie bei vielen anderen Adhäsionsmolekülen.

Der „homing-Rezeptor“ auf postkapillären Venolen der Lymphknoten und auf Leukozyten, ist für das initiale „Rollen“ bei Entzündungsreaktionen zuständig und wird schnell danach im so genannten „Shedding“ abgestreift. (168; 172)

In einer Arbeit von Ostanin et al., in welcher die Induktion und Aufrechterhaltung der chronischen Kolitis bei Mäusen untersucht wurde und die Funktion verschiedener Adhäsionsmoleküle dabei festgestellt werden sollte, zeigte sich, dass kein T-Zell-assoziiertes CD62L notwendig war, um die Entwicklung einer chronischen Kolitis zu initiieren (130).

Eine weitere Arbeit untersuchte das lösliche L-Selektin in Alpha-Zellen des Pankreas bei Kindern mit Diabetes mellitus. In den dort chronisch ablaufenden Entzündungsprozessen konnte weder vermehrt L-Selektin nachgewiesen werden, noch stellte das Vorkommen des Adhäsionsmoleküls prognostische Voraussagen für den weiteren Entzündungsverlauf dar (43). Die Expression war weiter unabhängig von Alter und Erkrankungsdauer.

Beide Studien decken sich mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit. Es konnte kein signifikanter Unterschied in der Ausprägung des Adhäsionsmoleküls zwischen den einzelnen

Gruppen gefunden werden. Alle drei Patientengruppen zeigten ähnliche Molekülausprägungen.

6 Zusammenfassung

Einleitung:

1982 gelang es Warren und Marshall aus Mägen von Patienten mit Gastritis und peptischen Ulcera spiralförmige Bakterien anzuzüchten, die später mit dem Namen *Helicobacter pylori* bezeichnet wurden. Das Bakterium ist ein gram-negativer Organismus, dessen hauptsächliches Reservoir der Mensch darzustellen scheint. Das Spektrum der Erkrankung nach der Infektion reicht von Gastritis bis hin zu maligner Transformation.

Eine Infektion mit *H. pylori* zeichnet sich durch eine chronische Entzündung des betroffenen Gewebes aus, in welchem ständig neue Entzündungszellen aktiviert und zum Entzündungsherd transportiert werden.

In Entzündungsherden ermöglicht es, die verlangsamte Flussgeschwindigkeit des Blutes, den Blutleukozyten, aus der Mitte des Gefäßes zu gelangen, um mit dem Gefäßendothel in Verbindung zu treten. Diese Wechselwirkung wird durch Adhäsionsmoleküle ermöglicht, welche auf der Plasmamembran von Endothelzellen, Leukozyten und anderen Blutzellen exprimiert sind und durch Entzündungsmediatoren aktiviert werden.

Der initiale Schritt der Leukozytenmigration wird als „Rollen“ bezeichnet. Es handelt sich dabei um eine schwache Bindung der Leukozyten ans Gefäßendothel aufgrund von Wechselwirkungen zwischen Selektinen auf dem Gefäßendothel und Leukozyten und deren Liganden. Stärkere Wechselwirkungen entstehen jetzt durch Aktivierung von Integrinen auf Leukozyten und Induktion von Adhäsionsmolekülen der Immunglobulinfamilie auf dem Endothel. Durch Interaktion der beiden Molekülgruppen kommt es zum Zellarrest der Leukozyten auf dem Gefäßendothel, der so genannten festen Adhäsion. Nun kann der Schritt der Extravasation der Leukozyten zum Entzündungsherd folgen. Die wichtigsten Zytokine, die in eine Entzündungsreaktion involviert sind, stellen $\text{TNF-}\alpha$, IL-1, IFN- γ und Chemokine

dar.

Methode:

Patienten, *H. pylori*-Status und Histologie: 70 Kinder (38 Mädchen und 32 Jungen, Alter 0,9-17,5 Jahre, Median 9,5 Jahre) wurden wegen unterschiedlicher gastrointestinaler Beschwerden endoskopiert und biopsiert. Entsprechend dem *H. pylori*-Status, den klinischen und endoskopischen Befunden sowie der Medikamentenanamnese wurden die Kinder in drei Gruppen aufgeteilt. *H. pylori*-infiziert war ein Kind, wenn mindestens drei der standardisierten Testverfahren (¹³C-Harnstoff-Atemtest, Urease Schnelltest, Histologie, Kultur und Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung) positive Ergebnisse lieferten. Eine Infektion wurde ausgeschlossen, wenn sämtliche Testverfahren konkordant negativ waren.

Die Antrumschleimhaut wurde gemäß den Sydney-Kriterien zur Beurteilung einer Gastritis klassifiziert: Grad der Aktivität, der Chronizität, der Bakteriendichte, der glandulären Atrophie sowie der intestinalen Metaplasie, jeweils auf einer Skala von 0 bis 3.

Gruppe 1 beinhaltete alle *H. pylori*-infizierten Kinder (n=31). Keines dieser Kinder hatte in den letzten vier Wochen vor der Endoskopie Antazida, Steroide, Antibiotika oder NSAR eingenommen. Außerdem litt keines dieser Kinder an einem Immundefekt.

Gruppe 2 beinhaltete diejenigen *H. pylori*-negativen Kinder (n=24), bei denen eine Magenbeteiligung im Rahmen der Grunderkrankung gesichert war oder nicht ausgeschlossen werden konnte, die in den letzten vier Wochen Medikamente eingenommen hatten oder die früher einmal *H. pylori*-infiziert gewesen waren.

Gruppe 3 umfasste die *H. pylori*-negativen Kinder (n=15), bei welchen weder die Anamnese noch der endoskopische Befund Hinweise auf eine Magenerkrankung lieferten, die in den letzten vier Wochen keine Medikamente eingenommen hatten und keine beeinträchtigte Immunität vorlag.

Immunhistochemie: Gefrierschnitte aus dem Antrum wurden mit Hilfe der indirekten

Immunperoxidase-Technik auf das Vorkommen von Adhäsionsmolekülen der Klasse der Integrine (CD11a, CD11b, CD18), Selektine und deren Liganden (CD62L, CD162) und Familie der Ig-Superfamilie (CD54, CD106) untersucht und dargestellt. Qualitativ wurde das Vorkommen von Lymphfollikeln festgehalten. Jeder Marker wurde quantitativ für eine Fläche von $0,625 \text{ mm}^2$ am Bildschirm ausgezählt, nachdem die Schnitte digitalisiert gespeichert wurden (dhs-Bilddatenbank, Version 4.0). Die angefärbten Zellen der Lamina propria wurden mm^2 ausgewertet.

Statistik: für die statistische Berechnung von Signifikanzen wurde der nicht-parametrische *Kruskal-Wallis-Test* und der *Mann-Whitney-U-Test* verwendet. Korrelationen wurden mit dem Spearman-rho-Korrelationskoeffizienten ermittelt.

Ergebnisse:

Lamina propria qualitativ: Lymphfollikel wurden bei 90% der *H. pylori*-positiven Kinder gesehen, bei 42% der Kinder der Gruppe 2, jedoch nicht bei Kindern der Gruppe 3. Die Sydney-Klassifikation bestätigte retrospektiv die klinische Patienteneinteilung: Patienten der Gruppe 3 zeigten eine unauffällige Histopathologie, während bei einem Teil der Kinder in Gruppe 2 und bei allen Kindern in Gruppe 1 ein Entzündungsgeschehen nachgewiesen werden konnte.

Lamina propria quantitativ: CD106- und CD11b-positive Zellen stiegen bei einer Infektion mit *H. pylori* signifikant an. Ein signifikanter Unterschied zwischen den *H. pylori* negativen Kindern der Gruppen 2 und 3 bestand nicht.

Korrelationen: In Gruppe 1 gab es auffällig mehr Korrelationen, als in den beiden anderen Gruppen. Vor allem in der Gruppe der Integrine zeigten sich verschiedenste Korrelationen, sowohl untereinander (CD11a, CD18), als auch zu Molekülen anderer Herkunftsklassen (CD54; CD106; CD162; CD62L). Selektine und Moleküle der Ig-Superfamilie korrelierten überhaupt nicht innerhalb ihrer Molekülklassen.

Schlussfolgerungen:

- CD106 kam regelmäßig in Zellen normaler Magenmukosa vor. Dieses Vorkommen ist nicht altersabhängig.
- Während *H. pylori*-Infektionen zeigte sich ein signifikanter Anstieg von CD106 positiven Zellen.
- Ein signifikanter Anstieg bei einer Infektion mit *H. pylori* zeigte sich auch bei CD11b positiven Zellen.
- CD54 positive Zellen sind regelmäßig in der Magenmukosa zu finden. Die Anfärbung unter ex-vivo-Bedingungen war allerdings sehr schwierig und ungenau, so dass dieses Molekül nicht für einen Nachweis von *H. pylori* unter den vorhandenen Versuchsbedingungen eignet.
- CD62L positive Zellen sind schwer anfärbbar. Weniger als 50 Prozent der vorhandenen Schnitte ließen sich überhaupt anfärben.
- Es zeigte sich eine Korrelation zwischen CD106 und allen untersuchten Integrinen bei Kindern der Gruppe 1. Dies zeugt von wichtigen Interaktionen der beiden Molekülgruppen in der Entstehung von Entzündungsreaktionen

Literaturverzeichnis

1. Abbas AK, Lichtmann AH, Pober JS. Immunologie. Verlag Hans Huber. 1996.
2. Al-Akwaa AM, Siddiquo N, Al-Mofleh IA. Primary gastric lymphoma. World J Gastroenterol. 2004. Jan;10(1):5-11.
3. Aliment.Pharmacol.Ther. 1997;11:641-649.
4. Alzari PM, Lascombe MB, Poljak RJA. Rev Immun. 1988;6:555-580.
5. Anderson DC. The role of β_2 -Integrins and intercellular adhesion molecule type 1 in inflammation. In: Physiology and Pathophysiology of leukocyte adhesion, edited by Granger ND, and Schmid-Schönbein GW. New York: Oxford University Press. 1995:3-42.
6. Ashorn M, Ruuska T, Karikoski R, Välipakka J, Mäki M. Gastric mucosal cell densities in *Helicobacter pylori*-positive and -negative dyspeptic children and healthy controls. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 1994;18:146-151.
7. Aydin O, Egilmez R, Karabacak T, Kanik A. Interobserver variation in histopathological assessment of *Helicobacter pylori* gastritis. World J Gastroenterol. 2003;9(10):2232-2235.
8. Baggiolini M, Dewald B, Moser B. Human chemokines: an update. Annu Rev Immunol. 1997;15:675-705.
9. Bahu Mda G, Da Silveira TR, Maguilnick I, Ulbrich-Kulczynski J. Endoscopic nodular gastritis: an endoscopic indicator of high-grade bacterial colonization and severe gastritis in children with *Helicobacter pylori*. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2003. Feb;36(2):217-222.
10. Becker JW, Erickson HP, Hoffman S, Cunningham BA, Edelmann GM. Proc natn Acad Sci. USA. 1989;86:1088-1092.
11. Bedoya A, Garay J, Sanzon F, Bravo LE, Bravo JC, Correa H, Craver R, Fonham E, Du JX, Correa P. Histopathology of gastritis in *Helicobacter pylori*-infected children from

- populations at high and low gastric cancer risk. *Hum Pathol*. 2003. Mar;34(3):206-213.
12. Berlin C, Bargatze RF, Campbell JJ. Alpha 4 integrins mediate lymphocyte attachment and rolling under physiological flow. *Cell*. 1995;80:413-422.
13. Bodger K, Crabtree JE. *Helicobacter pylori* and gastric inflammation. *Br Med Bull*. 1998;54(1):139-150.
14. Borchard F. Chemisch-reaktive Gastritis. *Der Pathologe*. 2001. Jan;22(1):44-55.
15. Borrelli O, Hassall E, D'Armiento F, Bosco S, Mancini V, Di Nardo G, Bueno de Mesquita M, Cucchiara S. Inflammation of the gastric cardia in children with symptoms of acid peptic disease. *J Pediatr*. 2003. Oct;143(4):520-524.
16. Burks W. Current understanding of food allergy. *Ann N Y Acad Sci*. 2002. May;964:1-12.
17. Byrne MF, Corcoran PA, Atherton JC, Sheehan KM, Murray FE, Fitzgerald DJ, Murphy JF. Stimulation of adhesion molecule expression by *Helicobacter pylori* and increased neutrophil adhesion to human umbilical vein endothelial cells. *FEBS Letters*. 2002;532:411-414.
18. Carlos TM, Harlan JM. Leukocyte-endothelial adhesion molecules. *Blood*. 1994;84:2068-2101.
19. Carpentieri DF, Wenner W, Liquornik K, Ruchelli E. Significance of lymphoid follicles and aggregates in gastric mucosa of children. *Pediatr Developm Pathol*. 2000;3:177-179.
20. Casselli M, Figura N, Trevisani L, Pazzi P, Guglielmetti P, Bovolenta MR, Stabellini G. Patterns of physical modes of contact between *Campylobacter pylori* and gastric epithelium: implications about the bacterial pathogenicity. *Am J Gastroenterol*. 1989;84:511-513.
21. Castano L, Blarduni E, Ortiz L, Nunez J, Bilbao JR, Rica I, Martul P, Vitoria JC. Prospective population screening for celiac disease: high prevalence in the first 3 years of life. *J Paediatr Gastroenterol Nutr*. 2004. Jul;39(1):80-84.

22. Chelimsky G, Czinn SJ. *Helicobacter pylori* infection in children: update. Curr Opin Pediatr. 2000;12:460-462.
23. Chen XY, Liu WZ, Zhang DZ, Xiao SD, Tytgat GN. Helicobacter pylori associated gastric diseases and lymphoid tissue hyperplasia in gastric antral mucosa. J Clin Pathol. 2002. Feb;55(2):133-137.
24. Chen XY, Van der Hulst RWM, Bruno MJ, Van der Ende A, Xiao SD, Tytgat GNJ, Ten Kate FJW. Interobserver variation in the histopathological scoring of *Helicobacter pylori* related gastritis. J Clin Pathol. 1999;52:612-615.
25. Choudhary CK, Bhanot UK, Agarwal A, Garbyal RS. Correlation of *H. pylori* density with grading of chronic gastritis. Indian J Pathol Microbiol. 2001. Jul;44(3):325-328.
26. Cohen MC, Cueto RE, Balcarce N, Donatone J, Drut R. Assessment of the Sydney system in Helicobacter pylori-associated gastritis in children. Acta Gastroenterol Latinoam. 2000;30(1):35-40.
27. Constantin G, Majeed M, Giagulli C. Chemokines trigger immediate β_2 -integrin affinity and mobility changes. Differential regulation and roles in lymphocyte arrest under flow. Immunity. 2000;13:759-769.
28. Cook-Mills JM. VCAM-1 signals during lymphocyte migration: role of reactive oxygen species. Mol Immun. 2002;39:499-508.
29. Corbí Al. Leukocyte integrins: structure, expression and function. 1996. Heidelberg: Springer Verlag.
30. Correa P. The gastric precancerous process. Cancer Surv. 1983;2:437-450.
31. Cover TL, Blaser MJ. Helicobacter pylori and gastroduodenal disease. Annu. Rev. Med. 1992;43:135-145.
32. Cover TL, Puryear W, Perez-Perez GJ, Blaser MJ. Effect of urease on Hela cell vacuolation induced by Helicobacter pylori cytotoxin. Infect Immun. 1991;59:1264-1270.

33. Crabtree JE, Peichl P, Wyatt JI, Stachl U, Lindley IJD. Gastric interleukin-8 and IgA II-8 autoantibodies in *Helicobacter pylori* infection. *Scand J Immunol.* 1993;37:65-70.
34. Craig PM, Territo MC, Karnes WE, Walsh JH. *Helicobacter pylori* secretes a chemotactic faktor for monocytes and neutrophils. *Gut* 1992;1020-1023.
35. Crowe SE, Alvarez L, Dytoc M, Hunt RH, Muller M, Sherman P, Patel J, Jin Y, Ernst PB. Expression of Interleukin 8 and CD54 by Human Gastric Epithelium After *Helicobacter pylori* Infection In Vitro. *Gastroenterology* 1995;108:65-74.
36. Diamanti A, Maino C, Niveloni S, Pedreira S, Vazquez H, Smecuol E, Fiorini A, Cabann A, Bartellini MA, Kogan Z, Valero J, Maurino E, Bai JC. Characterization of gastric mucosal lesions in patients with celiac disease: a prospective controlled study. *Am J Gastroenterol.* 1999. May;94(5):1313-1319.
37. Diamond MS, Garcia AJ, Bickford JK, Corbi AL, Springer TA. The I domain is a major recognition site on the leukocyte integrin Mac-1 (CD11b/CD18) for four distinct adhesion ligands. *J Cell Biol.* 1993;120:1031-1043.
38. Dinarello CA. The IL-1 family and inflammatory diseases. *Clin Exp Rheumatol.* 2002. Sep-Oct;20(5 Suppl 27):S1-13.
39. Dixon MF, Genta RM, Yardley JH, Correa P. Classification and grading of gastritis. The upgraded Sydney system. International workshop on the Histopathology of Gastritis, Houston 1994. *Am J Surg.Pathol.* 1996;20:1161-1181.
40. Drickamer K. Two distinct classes of carbohydrate- recognition domains in animal lectins. *J Biol Chem.* 1988;263:9557-9560.
41. Drumm B, Sherman P, Cutz E, Karmali M. Association od campylobacter pylori on the gastric mucosa with antral gastritis in children. *N Engl J Med.* 1987;316:1557-1561.
42. Drut R, Drut RM. Lymphocytic gastritis in pediatric celiac disease- immunohistochemical study of the intraepithelial lymphocytic component. *Med Sci Monit.* 2004.

- Jan;10(1):CR28-42.
43. Dursun H, Cinaz P, Bideci A, Guven A, Aybay C, Elbeg S. Serum levels of sL-Selektin and tumor necrosis factor-alpha in children with type 1 diabetes mellitus. *Acta Diabetol.* 2007Mar;44(1):1-5.
 44. Dustin ML, Rothlein R, Bhan AF, Dinarello CA, Springer TA. A natural adherence molecule (ICAM-1): induction by IL-1 and IFN- γ , tissue distribution, biochemistry and function. *J Immunol.* 1986;137:245-254.
 45. Eigler A, Sinha B, Hartmann G. Taming TNF: strategies to restrain this proinflammatory cytokine. *Immunol Today.* 1997;18:487-491.
 46. El Kaissouni J, Bene MC, Faure GC. Activation of epithelial cells in gastritis. *Digestion.* 1998;59(1):53-9.
 47. Elizalde JI, Gomez J, Panes J, Lozano M, Casadevall M, Ramirez J, Pizcueta P, Marco F, Rojas FD, Granger DN, Pique JM. Platelet activation in mice and human *Helicobacter pylori* infection. *J Clin Invest.* 1997Sept 1;100(5):996-1005.
 48. Ellmerich S, Djouder N, Scholler M, Klein JP. Production of cytokines by monocytes, epithelial and endothelial cells activated by streptococcus bovis. *Cytokine* 2000;12:26-31.
 49. Enders G, Brooks W, von Jan N, Lehn N, Bayerdörffer E, Hatz R. Expression of Adhesion Molecules on Human Granulocytes after Stimulation with *Helicobacter pylori* Membrane proteins: Comparison with Membrane Proteins from Other Bacteria. *Infection and Immunity.* July 1995;2473-2477.
 50. Ernst PB, Gold BD. *Helicobacter pylori* in childhood: new insights into the immunopathogenesis of gastric disease and implications for managing infection in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1999;28:462-473.
 51. Ernst PB, Gold BD. The disease spectrum of *Helicobacter pylori*: the immunopathogenesis of gastroduodenal ulcer and gastric cancer. *Annu Rev Microbiol.*

2000;54:615-640.

52. Frenette PS, Denis CV, Weiss L, Jurk K, Subbaro S, Kehrel B, Hartwig JH, Vestweber D, Wagner DD. P-selectin glycoprotein ligand 1 (PSGL-1) is expressed on platelets and can mediate platelet-endothelial interactions in vivo. *J Exp Med.* 2000 Apr17;191(8):1413-1422.
53. Frenette PS, Moyna C, Hartwell DW, Lowe JB, Hynes RO, Wagner DD. Platelet-endothelial interactions in inflamed mesenteric venules. *Blood* 1998 Feb15; 91(4):1318-1324.
54. Galdiero M, Folgore A, Moliterno M, Greco R. Porins and lipopolysaccharide (LPS) from *Salmonella typhimurium* induce leukocyte transmigration through human endothelial cells in vitro. *Clin. Exp. Immunol.* 1999;116:453-461.
55. Ganga-Zandzou PS, Michaud L, Vincent P, Husson MO, Wizla-Derambure N, Martin-Delasalle E, Turck D, Gottrand F. Natural outcome of *Helicobacter pylori* Infection in asymptomatic children: a two-year follow up Study. *Pediatr.* 1999. Aug;104(2):216-221.
56. Gascoyne RD. Molecular pathogenesis of mucosal-associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma. *Leuk Lymphoma.* 2003;44Suppl3:S13-20.
57. Genta RM, Hamner HW, Graham DY. Gastric lymphoid follicles in *Helicobacter pylori* infection: frequency, distribution and response to triple therapy. *Hum Pathol.* 1993;24:577-583.
58. Goddard AF, Logan RP. Review article: urea breath tests for detecting *Helicobacter pylori*.
59. González-Amaro R, Diaz- González F, Sánchez-Madrid F. Adhesion molecules in inflammatory diseases. *Drugs.* 1998. Dec;56(6):977-988.
60. Gottrand F, Cullu F, Turck D, Vincent P, Michaud L, Husson MO, Martin-Delasalle E, Farriaux JP. Normal gastric histology in *Helicobacter pylori*-infected children. *J Pediatr*

- Gastroenterol Nutr. 1997. Jul;25(1):74-78.
61. Graham DY. Pathogenetic mechanisms leading to *Helicobacter pylori*- induced inflammation. Eur J Gastroenterol Hepatol. 1992;4:59-516.
62. Granger ND. II. Leukocyte-endothelial cell adhesion in the digestive system. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. Nov1997;273(5):G982-G986.
63. Granquist A, Bredberg A, Sveger T, Axelsson I. A longitudinal cohort study on the prevalence of *Helicobacter pylori* antibodies in Swedish children and adolescents. Acta Paediatr. 2002. 91(6):636-640.
64. Graves BJ, Crowther RL, Chandran C, Rumberger JM, Li S, Huang KS, Presky DH, Familletti PC, Wolitzky BA, Burns DK. Insight into E-selectin/ligand interaction from the crystal structure and mutagenesis of the lec/EGF domains. Nature. 1994;367:532-538.
65. Green CE, Pearson DN, Camphausen RT, Staunton DE, Simon SI. Shear-Dependent Capping of L-Selectin and P-Selectin Glycoprotein Ligand 1 by E-Selectin Signals Activation of High-Avidity beta2-Integrin on Neutrophils. J Immunol. 2004 Jun 15;172(12):7780-7790.
66. Grimm W, Fischbach W. *Helicobacter pylori* infection in children and juveniles: an epidemiological study on prevalence, socio-economic factors and symptoms. Dtsch Med Wochenschr. 2003. Sep12;128(37):1878-1883.
67. Haber MM, Lopez I. Reflux gastritis in gastroesophageal reflux disease: a histopathological study. Ann Diagn Pathol. 1999;3:281-286.
68. Hansen PS, Madsen PH, Petersen SB, Nielsen H. Inflammatory activation of neutrophils by *Helicobacter pylori*; a mechanism insensitive to pertussis toxin. Clin Exp Immunol. 2001Jan;123(1):73-80.
69. Hatz R., Rieder G, Stolte M, Bayerdörffer E, Meimarakis G, Schildberg FW, Enders G. Pattern of Adhesion Molecule Expression on Vascular Endothelium in *Helicobacter*

- pylori- Associated Antral Gastritis. *Gastroenterology* 1997;112:1908-1919.
70. Heidemann J, Maaser C, Luger A, Spahn TW, Zimmer KP, Herbst H, Rafiee P, Domschke W, Krieglstein CF, Binion DG, Kucharzig TF. Expression of vascular cell adhesion molecule-1 (CD106) in normal and neoplastic human esophageal squamous epithelium. *Int J Onc.* 2006Jan ;28(1) :77-85.
 71. Heller RA, Krönke M. Tumor necrosis factor receptor mediated signaling pathway. *J Cell Biol.* 1994;126:5-9.
 72. Helmatha SG, Drumm B, Sherman PM. Adherence of *Helicobacter pylori* to human gastric epithelial cells in vitro. *J Med Microbiol.* 1991;35:197-202.
 73. Henninger DD, Panes J, Eppihimer M, Russell J, Gerritsen M, Anderson DC, Granger DN. Cytokine-induced VCAM-1 and ICAM-1 expression in different organs of the mouse. *J Immunol.* 1997.158:1825-1832.
 74. Hessey SJ, Spencer J, Wyatt J, Sobala G, Rathbone BJ, Axon ATR, Dixon MF. Bacterial adhesion and disease activity in *Helicobacter pylori* associated chronic gastritis. *Gut* 1990;31:134-138.
 75. Hession C, Moy P, Tizard R, Chisholm P, Williams C, Wysk M, Burkly L, Miyake K, Kincade P, Lobb R. Cloning of murine and rat Vascular cell adhesion molecule 1. *Biochem Biophys Res Commun.* 1992;183:163-169.
 76. Hession C, Tizard R, Vassallo C, Schiffer SB, Goff D, Moy P, Chi-Rosso G, Lühowskyj S, Lobb R, Osborn L. Cloning of an alternate form of vascular cell adhesion molecule 1. *Biol Chem.* 1991;266:6682-6685.
 77. Higuchi K, Arakawa T, Uchida T, Nakagawa K, Nakamura S, Matsumoto T, Fukuda T, Kobayashi K, Kuroki T. In situ expression of cell adhesion molecules in chronic gastritis with *Helicobacter pylori* Infection. *J Clin Gastroenterol.* 1997. 25(1):215-221.
 78. Huang GTJ, Eckmann L, Savidge TR, Kagnoff MF. Infection of human intestinal epithel

- cells with invasive bacteria upregulates apical intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) expression and neutrophil adhesion. *J Clin Invest.* 1996;98(2):572-583.
79. Huang JQ, Hunt rH. Treatment after failure: the problem of “non-responders”. *Gut.* 1999. Jul;45(1):I40-I44.
 80. Hussel T, Issaacson PG, Crabtree JE, Spencer J. The response of cells from low-grade B-cell gastritic lymphomas of mucosa- associated lymphoid tissue to *Helicobacter pylori*. *Lancet* 1993;342:571-574.
 81. Innocenti M, Thoreson A-C, Ferrero RL, Strömberg E, Bölin I, Eriksson L, Svennerholm A-M, Quiding-Järbrink, M. *Helicobacter pylori*- Induced Activation of Human Endothelial Cells. *Infection and Immunity.* Aug 2002;4581-4590.
 82. Janeway CA, Travers P, Walport M, Shlomchik M. *Immunologie. Spektrum Akademischer Verlag.* 5. Auflage 2002.
 83. Janulaitytė-Günther D, Günther T, Pavilonis A, Kupčinskas L. What Bizzozero never could imagine- *Helicobacter pylori* today and tomorrow. *Medicina.* 2003;39(6):542-549.
 84. Jhala NC, Siegal GP, Klemm K, Atkinson BF, Jhala DN. Infiltration of *Helicobacter pylori* in the gastric mucosa. *Am J Clin Pathol.* 2003 Jan;119(1):101-7.
 85. Kandel G. *Helicobacter* and disease: still more questions than answers. *Can J Surg.* 2000. Oct;43(5):339-346.
 86. Kansas GS. Selectins and their ligands: current concepts controverseries. *Blood.* 1996;88:3259-3287.
 87. Kindermann A, Demmelmair H, Koletzko B, Krauss-Etschmann S, Wiebecke B, Koletzko S. Influence of age on 13C-urea breath test results in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2000. Mar;30(3):354.
 88. Kishimoto TK, Jutila MA, Berg EL, Butcher EC. Neutrophil Mac-1 and MEL-14 adhesion proteins inversely regulated by chemotactic factors. *Science.* 1989;245:1238-

1241.

89. Ko GH, Kang SM, Kim YK, Lee JP, Park CK, Youn HS, Baik SC, Cho MJ, Lee WK, Rhee KH. Invasiveness of *Helicobacter pylori* into human gastric mucosa. *Helicobacter*. 1999 Jun;4(2):77-81.
90. Konturek JW. Discovery by Jaworski of *Helicobacter pylori* and its pathogenetic role in peptic ulcer, gastritis and gastric cancer. *J Physiol Pharmacol*. 2003. Dec;54(3):23-41.
91. Konturek JW. Discovery by Jaworski of *Helicobacter pylori* and its pathogenetic role in peptic ulcer, gastritis and gastric cancer. *J Physiol Pharmacol*. 2003. Dec;54(3):23-41.
92. Korthuis RJ, Anderson DC, Granger DN. Role of neutrophil-endothelial cell adhesion in inflammatory disorders. *J Crit Care*. 1994;9:47-71.
93. Krull M, Dold C, Hippenstiel S, Rosseau S, Lohmeyer J, Suttrop N. *Escherichia coli* hemolysin and *Staphylococcus aureus* alpha-toxin potently induce neutrophil adhesion to cultured human endothelial cells. *J. Immunol*. 1996;157:4133-4140.
94. Kubes O, Suzuki M, Granger DN. Modulation of PAF-induced leukocyte adherence and increased microvascular permeability. *Am J Physiol*. 1990;259(22):G859-G864.
95. Kundahl PS, Stormon MO, Zachos M, Critch JN, Cutz E, Griffiths AM. Gastral antral biopsy in the differentiation of pediatric colitides. *Am J Gastroenterol*. 2003. Mar;98(3):557-561.
96. Kuo CH, Wu DC, Lu CY, Yu FJ, Lee YC, Wu IC, Lin SR, Liu CS, Jan CM, Wang, WM. The media of rapid urease test influence the diagnosis of *Helicobacter pylori*.
97. Kyzekova J, Mour J. The effect of eradication therapy on histological changes in the gastric mucosa in patients with non-ulcer dyspepsia and *Helicobacter pylori* infection. Prospective randomized intervention study. *Hepatogastroenterology*. 1999. May-Jun;46(27):2048-2056.
98. Lawrence MB, Springer TA. Leukocytes roll on a selectin at physiologic flow rates:

- distinction from and prerequisite for adhesion through integrins. *Cell*. 1991;65:859-873.
99. Lazaris AC, Dicoglou C, Tseleni-Balafouta S, Paraskevakou H, Davaris PS. In situ expression of E-selectin and intercellular adhesion molecule-1 in chronic inflammatory diseases of the gastrointestinal tract. *APMIS*. 1999Sept;107(9):819-27.
100. Ley K. Integration of inflammatory signals by rolling neutrophils. *Immunological Reviews*. 2002;186:8-18.
101. Li F, Wilkins PP, Crawley S, Weinstein J, Cummings RD, McEver RP. Post-translational modifications of recombinant P-selectin glycoprotein ligand 1 required for binding to P-and E-selectin. *J Biol Chem*. 1996;271:3255-3264.
102. Loffeld RJ. Diagnostic value of endoscopic signs of gastritis: with special emphasis to nodular antritis. *Neth J Med*. 1999. Mar;54(3):96-100.
103. Ludwig RJ, Schultz JE, Boehncke WH, Podda M, Tandi C, Krombach F, Baatz H, Kaufmann R, von Andrian UH, Zollner TM. Activated, non resting, platelets increase leukocyte rolling in murine skin utilizing a distinct set of adhesion molecules. *J Invest Dermatol*. 2004Mar;122(3):830-6.
104. Luo BH, Springer TA, Takagi J. A specific interface between integrin transmembran helices and affinity for ligand. *PloS Biol*. 2004. Jun;2(6):E153.
105. Luster AD. Chemokines: chemotactic cytokines that mediate inflammation. *N Engl J Med*. 1998;338:436-445.
106. Luzza F, Pensabene L, Imeneo M, Mancusco M, Contaldo A, Giancotti L, La Vecchia AM, Costa MC, Strisciuglio P, Docimo C, Pallone F, Guandalini S. Antral nodularity identifies children infected with *Helicobacter pylori* with higher grades of gastric inflammation. *Gastrointest Endoscop*. 2001;53(1):60-64.
107. Maciorkowska E, Dzieciol J, Kemon A, Kaczmariski M. Evaluation of selected cytokines and mononuclear cell infiltrations in gastric mucosa of children with food

- allergy. Med Sci Monit. 2000. May-Jun;6(3):567-572.
108. Madan B, Prasad AK, Parmar VS, Ghosh B. 1,4-dihydroxyxanthone modulates the adhesive property of endothelial cells by inhibiting intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) and E-selektin. Bioorg Med Chem. 2004Mar 15;12(6):1431-7.
 109. Mai UEH, Perez-Perez GI, Wahl LM, Wahl SM, Blaser MJ, Sthmith PD. Soluble surface proteins from *Helicobacter pylori* exhibit chemotactic activity for human leukocytes and are present in gastric mucosa. J Exp Med. 1992;175:517-525.
 110. Mai UEH, Perez-Perez GI, Wahl LM, Wahl SM, Blaser MJ, Smith PD. Soluble surface proteins from *Helicobacter pylori* activate Monocytes/macrophages by lipopolysaccharide-independent mechanism. J. Clin. Invest. 1991;87:894-900.
 111. Malfertheiner P, Peitz U, Wolle K, Treiber G. *Helicobacter-pylori* Infektion- ein Update 2004. Dtsch Med Wochenschr. 2004;129:1821-1826.
 112. Marlin SD, Springer TA. Purified intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) is a ligand for lymphocyte function-associated antigen 1(LFA-1). Cell. 1987;51:813-819.
 113. Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. Lancet. 1984;i:1311-1314.
 114. Megraud F. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. Gastroenterol Clin North Am. 1993. 22:73-88.
 115. Meining A, Behrens R, Lehn N, Bayerdörffer E, Stolte M. Different expression of *Helicobacter pylori* gastritis in children: evidence for a specific pediatric disease? *Helicobacter*. 1996;1(2):92-97.
 116. Mention K, Michaud L, Guimber D, Martin de Lasalle E, Vincent P, Turck D, Gottrand F. Characteristics and prevalence of *Helicobacter heilmanii* infection in children undergoing upper gastrointestinal endoscopy. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 1999.

Nov;29(5):533-539.

117. Mori N, Wada A, Hirayama T, Parks TP, Stratowa C, Yamamoto N. Activation of Intercellular Adhesion Molecule 1 Expression by *Helicobacter pylori* Is Regulated by NF- κ B in Gastric Epithelial Cancer Cells. *Infection and Immunity*. Apr. 2000;1806-1814.
118. Muller AM, Hermanns MI, Cronen C, Kirkpatrick CJ. Comparative study of adhesion molecule expression in cultured human macro- and microvascular endothelial cells. *Exp Mol Pathol*. 2002Dec;73(3):171-80.
119. Nielson H, Anderson P. Chemotactic activity of *Helicobacter pylori* sonicate for human polymorphonuclear leukocytes and monocytes. *Gut* 1992; 33:738-742.
120. Nieto M, Frade JMR, Sancho D. Polarization of chemokine receptors to the leading edge during lymphocyte chemotaxis. *J Exp Med*. 1997;18:153-158.
121. NIH Consensus Conference. *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. NIH Consensus Development Panel on *Helicobacter pylori* in Peptic Ulcer Disease. *JAMA* 1994;272:65-69.
122. Nilius N, Malfertheiner P. Diagnostische Verfahren bei der *Helicobacter pylori* Infektion: *Helicobacter pylori*- von der Grundlage bis zur Therapie. In: Anonymous Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1994:139-147.
123. Nomura A, Stemmermann GN, Chyou PH, Kato I, Perez-Perez GI, Blaser MJ. *Helicobacter pylori* infection and gastric carcinoma among Japanese Americans in Hawaii. *N. Engl. J. Med*. 1991;325:1132-1136.
124. Oberhuber G, Wuendisch T, Rappel S, Stolte M. Significant improvement of atrophy after eradication therapy in atrophic body gastritis. *Pathol Res Pract*. 1998. 194(9):609-613.
125. Ohkusa T, Fujiki K, Takashimizu I, Kumagai J, Tanizawa T, Eishi Y. Endoscopic and histological comparison of nonulcer dyspepsia with and without *Helicobacter pylori*

- infection evaluated by the modified Sydney system. *Am J Gastroenterol*. 2000. Sep;95(9):2195-2199.
126. Onders RP. Detection methods of *H. pylori*: accuracy and costs. *Am Surg*. 1997. Aug;63(8):665-668.
 127. Osborn L, Hession C, Tizard R, Vassallo C, Luhowski C, Chi RG, Lobb R. Direct expression of vascular adhesion molecule , a cytokine-induced endothelial protein that binds to lymphocytes. *Cell*. 1998;59:1203-1211.
 128. Osborn L, Vasallo C, Benjamin CD. Activated endothelium binds lymphocytes through a novel binding site in the alternately spliced domain of vascular cell adhesion molecule 1. *J Exp Med*. 1992;176:99-107.
 129. Ostanin DV, Furr KL, Pavlick KP, Gray L, Kevil CG, Shukla D, D'Souza D, Hoffman JM, Grisham MB. Tcell- associated CD18 but not CD62L, ICAM-1 or PSGL-1 is required for the induction of chronic colitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2007Jun;292(6):G1706-14.
 130. Panés J, Granger DL. Special Reports and Reviews: Leucozyte-Endothelial Cell Interactions. Molecular Mechanisms And Implications in Gastrointestinal Disease. *Gastroenterology* 1998;114:1066-1090.
 131. Panés J, Perry MA, Anderson DC, Manning A, Leone B, Cepinskas G, Rosenbloom CL, Miyasaka M, Kvietys PR, Granger ND. Regional differences in constitutive and induced ICAM-1 expression in vivo. *The American Physiological Society*. 1995:H1955-H1964.
 132. Parkos CA. Cell adhesion and migration. I. Neutrophil adhesive interactions with intestinal epithelium. *Am J Physiol*. 1997Oct;273(4 Pt 1):G763-8.
 133. Parsonnet J, Hansen S, Rodriguez L, Gelb AB, Warnke RA, Jellum E, Orentreich N, Vogelmann JH, Friedmann GD. *Helicobacter pylori* infection and gastric lymphoma. *N*

- Engl J Med. 1994;330:1267-1271.
134. Pascasio JM, Hammond S, Qualman SJ. Recognition of Crohn disease on incidental gastric biopsy in childhood. *Pediatr Dev Pathol*. 2003. May-Jun;6(3):209-214.
 135. Pashankar DS, Israel DM. Gastric polyps and nodules in children receiving long-term omeprazole therapy. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2002. Nov;35(5):658-662.
 136. Patel KD, Nollert MU, McEver RP. P-selectin must extend a sufficient length from the plasma membrane to mediate rolling of neutrophils. *J Cell Biol*. 1995;131:1893-1902.
 137. Petersen AM, Krogfelt KA. *Helicobacter pylori*: an invading microorganism? A review. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2003 May 25;36(3):177-126.
 138. Pouyari T, Seed B. PSGL-1 recognition of P-selectin is controlled by a tyrosine sulfation consensus at the PSGL-1 amino terminus. *Cell*. 1995;83:333-343.
 139. Raab M, Daxecker H, Markovic S, Karimi A, Griesmacher A, Mueller MM. Variation of adhesion molecule expression on human umbilical vein endothelial cells upon multiple cytokine application. *Clin Chim Acta*. 2002 Jul;321(1-2):11-6.
 140. Reimann HJ, Ring J, Ultsch B, Wendt P. Intragastral provocation under endoscopic control (IPEC) in food allergy: mast cell and histamine changes in gastric mucosa. *Clin Allergy*. 1985. Mar;15(2):195-202.
 141. Rijcken EM, Laukoetter MG, Anthoni C, Meier S, Mennigen R, Spiegel HU, Bruewer M, Senninger N, Vestweber D, Krieglstein CF. Immunoblockade of PSGL-1 attenuates established experimental murine colitis by reduction of leukocyte rolling. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2004 Jul;287(1):G115-24.
 142. Roitt IM, Brostoff J, Male DK. *Kurzes Lehrbuch der Immunologie*. Thieme Verlag. 2. Auflage 1995
 143. Rollins BJ. Chemokines. *Blood*. 1997;90:909-928.
 144. Rothenbacher D, Bode G, Gommel R, Gonser T, Adler G, Brenner H. Prevalence and

- determinants of *Helicobacter pylori* infection in preschool children: a population-based study from Germany. *Int J Epidemiol.* 1998. Feb;27(1):135-141.
145. Rothenbacher D, Inceoglu J, Bode G, Brenner H. Acquisition of *Helicobacter pylori* infection in a high-risk population occurs within the first two years of life. *J Pediatr.* 2000. Jun;136(6):714-716.
146. Rowland M, Drumm B. Clinical significance of *Helicobacter* infection in children. *Br Med Bull.* 1998;54(1):95-103.
147. Rüssmann H, Kempf VA, Koletzko S, Heesemann J, Autenrieth IB. Comparison of fluorescent in situ hybridization and conventional culturing for detection of *H. pylori* in gastric biopsy specimens. *J Clin Microbiol.* 2001. Jan;39(1):304-308.
148. Sako D, Chang XJ, Barone KM, Vachino G, White HM, Shaw G, Veldmann GM, Bean KM, Ahern TJ, Furie B, Cumming DA, Larsen GR. Expression cloning of a functional glycoprotein ligand for P-selectin. *Cell.* 1993;75:1179-1186.
149. Sako D, Comess KD, Baronte KM, Camphausen RT, Cumming DA, Shaw GD. A sulfated peptid segment at the amino terminus of PSGL-1 is critical for P-selectin binding. *Cell.* 1995;83:323-331.
150. Scheynius A, Engstrand L. Gastric epithelial cells in *Helicobacter pylori*-associated gastritis express HLA-DR but not ICAM-1. *Scand J Immunol.* 1991. 33:237-241.
151. Segal SS, Duling BR. Conduction of vasomotor responses in arterioles: a role for cell-to-cell coupling? *Am J Physiol.* 1989;256(25):H838-H845.
152. Siegelmann M. More than the sum of parts: cooperation between leukocyte adhesion receptors during extravasation. *J Clin Invest.* 2001;107(2):159-160.
153. Simmons D, Makgoba MW, Seed B. *Nature.* 1988;331:624-627.
154. Sims TN, Dustin ML. The immunological synapse: integrins take the stage. *Immunological Reviews* 2002;186:100-117.

155. Sixt M, Hallmann R, Wendler O, Scharffetter-Kochanek K, Sorokin LM. Cell adhesion and migration properties of beta 2-integrin negative polymorphonuclear granulocytes on defined extracellular matrix molecules. Relevance for leukocyte extravasation. J Biol Chem. 2001 Jun 1;276(22):18878-87.
156. Skalak R, Skalak T. Flow behavior of leukocytes in small tubes. Physiology and Pathophysiology of Leukocyte Adhesion. New York: Oxford University. 1995; chapter 4:97-115.
157. Slater C, Preston T, Weaver LT. Is there an advantage in normalising the results of the *Helicobacter pylori* (13C) urea breath test for CO₂ production rate in children. Isotopes Environ Health Stud. 2004.Mar;40(1):89-98
158. Smith McJ, Berg EL, Lawrence MB. A Direct Comparison of Selectin-mediated Transient, Adhesive Events Using High Temporal Resolution. Biophys J Dec 1999;77(6):3371-3383.
159. Smoot DT. How does *Helicobacter pylori* cause mucosal damage? Direct mechanisms. Gastroenterology. 1997;113:S31-S34.
160. Springer T.A. Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm. Cell 1994.76:301-314.
161. Springer TA. Adhesion receptors of the immune system. Nature. 1990 Aug2;346:425-434.
162. Staunton DE, Marlin SD, Stratowa C, Dustin ML, Springer TA. Primary structure of ICAM-1 demonstrates interaction between members of the immunoglobulin and integrin supergene families. Cell. 1988;52:925-933.
163. Stolte M, Meining A. The updated Sydney system: classification and grading of gastritis as the basis of diagnosis and treatment. Can. J. Gastroenterol. 2001. Sep.15.(9):591-8.

164. Sun XM, Qu XW, Huang W, Granger DN, Bree M, Hsueh W. Role of leukocyte β_2 -integrin PAF-induced shock and intestinal injury. The American Physiological Society. 1996;G184-G190.
165. Tepes B, Kavcic B, Zaletel LK, Gubina M, Ihan A, Poljak M, Krizma F. Two- to four-year histological follow-up of gastric mucosa after *Helicobacter pylori* eradication. J Pathol. 1999. May;188(1):24-29.
166. Tepes B, Kavcic B, Zaletel LK, Gubina M, Ihan A, Poljak M, Krizman I. Two- to four-year histological follow-up of gastric mucosa after *H. pylori* eradication. J Pathol. 1999. May;188(1):24-29.
167. Torres J, Perez-Perez G, Goodman KJ, Atherton JC, Gold BD, Harris PR, la Garza AM, Guarner J, Munoz O. A comprehensive review of the natural history of *Helicobacter pylori* infection in children. Arch Med Res. 2000. Sep-Oct;31(5):431-469.
168. Tu LL, Poe JC, Kadono T, Venturi GM, Bullard DC, Tedder TF, Steeber DA. A Functional Role für Circulating Mouse L-Selektin in Regulating Leukocyte/Endothelial Cell Interactions in vivo. J of Immunology. 2002;169:2034-2043.
169. Uhlig HH, Tannapfel A, Mossner J, Jedwilayties S, Deutscher J, Muller DM, Kiess W, Richter T. Histopathological parameters of *Helicobacter pylori* associated gastritis in children and adolescents: comparison with findings in adults. Scand J Gastroenterol. 2003. Jul;38(7):701-706.
170. Van de Stolpe A, van der Saag PT. Intercellular adhesion molecule 1. J Mol Med. 1996;74:13-33.
171. Vassalli P. The pathophysiology of tumor necrosis factor. Annu Rev Immunol. 1992;10:411-443.
172. Vestweber D, Blanks JE. Mechanisms That Regulate the Function of the Selectins and Their Ligands. Physiological Reviews. 1999;79:181-213.

173. Von Andrian UH et al. Two-step model of leukocyte-endothelial cell interaction in inflammation: distinct roles for LECAM-1 and leukocyte beta 2 integrins in vivo. Proc Natl Acad Sci USA. 1991;88:7538-7542.
174. Walcheck B, Kahn J, Fisher JM, Wang BB, Fisk RS, Payan DG, Feehan C, Betageri R, Darlak K, Spatola AF, Kishimoto TK. Neutrophil rolling altered by inhibition of L-selectin shedding in vitro. Nature. 1996;380:720-723.
175. Wallace JL. Possible mechanisms and mediators of gastritis associated with *Helicobacter pylori* infection. Scand J Gastroenterol. 1991;26:65-70.
176. Whitney AE, Emory TS, Marty AM, O'Shea PA, Newman GW, Bold BD. Increased macrophage infiltration of gastric mucosa in *Helicobacter pylori*-infected children. Dig Dis Sci. 2000. Jul;45(7):1337-1342.
177. Whitney AE, Guarner J, Hutwagner MS, Gold BD. *Helicobacter pylori* gastritis in children and adults: comparative histopathologic study. Ann Diagn Pathol. 2000. Oct;4(5):279-285.
178. Williams AF, Barclay ANA. Rev Immun. 1988;6:381-405.
179. Yang J, Hirata T, Croce K, Merrill-Skoloff G, Tchernychev B, Williams B, Flaumenhaft R, Furie BC, Furie B. Targeted gene disruption demonstrates that P-selectin glycoprotein ligand 1 (PSGL-1) is required for P-selectin-mediated but not E-selectin-mediated neutrophil rolling and migration. J Exp Med. 1999 Dec20;190(12):1769-1782.
180. Yoshida N, Granger DN, Doyle J, Evans JR, Evans DG, Graham DY, Anderson DC, Wolf RE, Kvietys PR. Mechanisms Involved in *Helicobacter pylori*- Induced Inflammation. Gastroenterology 1993;105:1431-1440.
181. Yoshida N, Kassai K, Murase H, Tanaka Y, Kokura S, Ichikawa H, Naito Y, Okanoue T, Yoshikawa T. Effects of *Helicobacter pylori* water extract on expression of endothelial adhesion molecules. Can J Gastroenterol. 2004Jun;18(6):387-91.

182. Zimmermann BJ, Holt JW, Paulson JC, Anderson DC, Miyasaka M, Tamatani T, Todd RF, Rusche JR, Granger DN. Molecular determinants of lipid mediator induced leukocyte adherence and emigration in rat mesenteric venules. *Am J Physiol.* 1994;266(35):H847-H853.
183. Zollner TM, Asadullah K. Selectin and selectin ligand binding: a bittersweet attraction. *J Clin Invest.* 2003. Oct;112(7):980-983.

Lebenslauf

Persönliche Daten:	
Name:	Hexamer
Vorname:	Sylvia
Geburtsdatum:	10.06.1977
Geburtsort:	München
Anschrift:	Kaiserstr. 34, 80801 München
Familienstand:	Ledig
Religion:	Römisch-katholisch
Schulbildung:	
09/1983-07/1987	Grundschule in München
09/1987-07/1995	Gymnasium in München
09/1995-06/1997	Gymnasium Neubiberg; Abschluss mit allgemeiner Hochschulreife
Auslandsaufenthalte:	
02/1995-04/1995	Dreimonatiger Schüleraustausch am Heywood and District Secondary College, Victoria, Australien
Hochschulbildung:	
05/1998-10/2004	Ludwig-Maximilians-Universität-München Studium der Humanmedizin
10/2004	Abschluss des Studiums mit der Gesamtnote 1,66
Berufliche Tätigkeit:	
03/2005-07/2006	Weiterbildungsassistentin für Pädiatrie; Praxis Dr. Thomas Sturm, Fürstenfeldbruck
08/2006-01/2008	Josefinum Augsburg, Zweigstelle Kempten: Assistenzärztin für Kinder- und Jugendpsychiatrie und Psychotherapie
seit 02/2008	Josefinum Augsburg, Assistenzärztin für Kinder- und Jugendpsychiatrie und Psychotherapie